Aus dem Institut
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Vergleichende pharmakognostische Untersuchung in der Gattung ERYTHROPHLEUM

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
an der Freien Universität Berlin

1961

vorgelegt von
Jürgen Klaffenbach
aus
Berlin

Aus dem Institut
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Vergleichende pharmakognostische Untersuchung in der Gattung ERYTHROPHLEUM

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Klaffenbach
aus
Berlin

Referent: Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent: Professor Dr. G. Schenck

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 18.11.1960

Tag der Promotion: 27. Feb. 1961

Meinen Eltern und

meiner Frau

in Dankbarkeit gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. HÄNSEL durchgeführt.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer Herrn Professor Dr. R. HÄNSEL für seine wertvollen Ratschläge und stets rege Anteilnahme an der Entwicklung dieser Arbeit herzlichst zu danken.

Doch möchte ich nicht versäumen, dem Herrn Prorektor Professor Dr. G. SCHENCK in seiner Eigenschaft als Direktor des Pharmazeutischen Institutes der Freien Universität meinen Dank auszusprechen für die freundliche Erlaubnis zur Benutzung der Bibliothek und Apparaturen des Pharmazeutischen Institutes.

Herrn Professor Dr. H. F. ZIPF, ehem. Direktor des Veterinär-Pharmakologischen Institutes der Freien Universität, gilt mein Dank für die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes während des Ausbaues des Pharmakognostischen Institutes und sein Interesse an dieser Arbeit.

Ferner möchte ich mich bedanken bei allen denen, die mir durch Hinweise und Ratschläge auf Grund ihrer Erfahrung freundliche Unterstützung angedeihen liessen:

Frau Dr.L. LANGHAMMER bei der Bearbeitung des botanischen Teiles,

Herrn Dr. H. LOTH für die Überlassung einer Vergleichsprobe Myricetin,

der Fa.Dr.Willmar SCHWABE, Karlsruhe, insbesondere Herrn Dr.R.NEU für die Möglichkeit, im dortigen Untersuchungslabor einige Untersuchungen durchführen zu können.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	6
A. Pharmakognostisch-botanischer Teil	9
1. Allgemeines	9
2. Beschreibung der Rinde von Erythrophleum africanum	12
3. Vergleich der Untersuchungsergebnisse mit den anatomischen Befunden von Erythrophleum guineense	15
4. Diskussion	19
B. Zur phytochemischen Charakterisierung von Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum	21
I. Unterschiede in der Flavonoidführung	21
1. Analytischer Grundversuch	21
2. Papierchromatographische Untersuchung auf Flavonoide bei Erythrophleum guineense	22
3. Ein neues Dihydroflavonol aus Erythrophleum africanum	24
a) Isolierung	27
b) Identifizierung als (+)-2.3-Dihydromyricetin	29
α) Alkalispaltung	31
β) Dehydrierung zum Myricetin	33
γ) Reduktion zum Flavyliumsalz	35
c) Die Beziehungen zwischen unserem neuen (+)-2.3-Dihydromyricetin zu dem Ampelopsin	37
II. Vergleichende Untersuchung der Alkaloidführung von Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum	39

Seite

1. Papierchromatographische Auftrennung der in Erythrophleum guineense vorkommenden Alkaloide 40
a) Literaturübersicht der bisher aus Erythrophleum guineense isolierten Alkaloide 40
b) Isolierung von Cassain 42
c) Papierchromatographie 43
2. Papierchromatographische Auftrennung der in Erythrophleum africanum vorkommenden Alkaloide 45

C. Zusammenfassung 50

D. Experimenteller Teil 51

E. 9 Abbildungen, Verzeichnis der Abbildungen 77

Lebenslauf 87

HAUPTTEIL

Einleitung

Die folgende Untersuchung ist eine vergleichende Untersuchung: homologe Organe zweier formverwandter Pflanzen werden auf charakteristische Ähnlichkeiten und Unterschiede einiger morphologischer Merkmale (anatomischer Teil) und phytochemischer Merkmale (Alkaloidführung und Flavonoidführung) hin geprüft. Untersuchungsobjekte sind die Cortices der beiden zur Familie der Leguminosen gehörenden Erythrophleum-Arten: Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum.

Die Rinde der zuerst genannten Species (Erythrophleum guineense) ist ihrer chemischen Zusammensetzung nach einigermaßen bekannt; sie dient uns gewissermaßen als bekanntes Bezugsobjekt, zu dem die bisher nicht geprüfte Erythrophleum africanum in vergleichende Beziehung gebracht werden soll.

In erster Linie handelt es sich um eine vergleichende phytochemische Untersuchung und man kann nach dem allgemein wissenschaftlichen Wert derartiger Untersuchungen fragen.

Fülle und Ordnung sind die beiden auffallenden Phänomene, denen wir uns in der Pflanzenwelt gegenüber sehen. Allein etwa 300.000 Arten von grünen, chlorophyllführenden Pflanzen sind bisher beschrieben worden. Seit Carl von LINNÉ werden sie nach morphologischen Merkmalen, nach Ähnlichkeiten und Verschiedenheiten so geordnet, daß Gesetzmäßigkeiten des Naturgegebenen zum Ausdruck kommen. Trotz ihrer Formenfülle zeichnen sich sämtliche grünen Pflanzen durch eine gemeinsame Eigenschaft aus; sie bilden aus der Kohlensäure der Luft organische Materie (Zucker, Stärke, Eiweiß usw.): dabei verlaufen die grundlegenden Stoffwechselreaktionen bei allen grünen Pflanzen gleichartig - es ist das eines der wesentlichsten Ergebnisse der modernen Stoffwechselphysiologie und Biochemie. Analysiert man aber mit chemischen

Methoden eine Pflanze oder ein pflanzliches Organ, so beobachtet man, daß - außer aus den genannten "Primärprodukten" - ein oft hoher Anteil der organischen Zellbestandteile aus Stoffen besteht, die von Species zu Species, von Gattung zu Gattung, ihrem chemischen Aufbau nach sehr verschieden sind: Die Vielfalt der chemischen Strukturen der Pflanzeninhaltsstoffe scheint auf anderer Ebene eine Widerspiegelung der Vielfalt morphologischer Formen zu sein. Während aber die makroskopische Strukturlehre zu ordnen vermochte, scheint uns die Vielzahl an "sekundären Pflanzenstoffen" in der Phytochemie nichts als ein kontingentes Durcheinander zu sein, ohne Ordnungselemente. Es soll allerdings nicht geleugnet werden, daß seit mehr als 250 Jahren (seit JAMES PETIVER 1699) , und bis in die Gegenwart hinein, immer wieder versucht worden ist, zu einem wissenschaftlichen Verstehen von Verbreitung und Struktur der Pflanzenstoffe zu gelangen. Hauptsächlich zielen diese Bestrebungen dahin, Ordnungselemente dadurch zu gewinnen, daß die Ergebnisse der Phytochemie in Beziehung gesetzt werden zu Ergebnissen der Taxonomie. Zu nennen sind hier an modernen Arbeiten die der von der Chemie herkommenden Forscher ERDTMAN [1], KORTE [2] und BATE-SMITH [3] . Auf Einzelheiten soll an dieser Stelle um so weniger eingegangen werden, als vor kurzem ausführliche Zusammenfassungen (HEGNAUER, 1958 [4]) über diesen Gegenstand veröffentlicht wurden. Eine Tatsache jedoch möge hervorgehoben werden: die weitere Entwicklung einer Chemotaxonomie (R.HEGNAUER) bzw. Vergleichenden Phytochemie

---

[1] ERDTMAN,H. Progress in organic.chemistry 1,22 (1952)
Exper.suppl.II,156 Basel 1955
[2] KORTE,F. Z.Naturforsch. 9b,354 (1954)
10b,499 (1955)
[3] BATE-SMITH,E.C. Biochem.J.58,126 (1954
[4] HEGNAUER,R. Pharmac.Acta Helvetiae.33,287 (1958)

(R. HÄNSEL [1]) ist geknüpft an die Forderung, ein wesentlich umfangreicheres Tatsachenmaterial zu erarbeiten, als das, was uns heute zur Verfügung steht. Zur Vermehrung des descriptiven Tatsachenmaterials soll die vorliegende Untersuchung einen weiteren, wenn auch kleinen Baustein liefern.

---

[1] HÄNSEL,R. Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 289,619 (1956)

A. Pharmakognostisch-botanischer Teil

1. Allgemeines

Im Drogenmaterial, das unter der Bezeichnung Cortex S a s s y oder Cortex E r y t h r o p h l o e i im Handel ist, finden sich Rinden mehrerer Erythrophleum-Arten. Echte Droge soll von Erythrophleum guineense G.DON stammen. - Aber schon H. ZÖRNIG [1] gibt an, daß auch andere Erythrophleum-Arten von den Seychellen und China unter der gleichen Bezeichnung in den Handel gelangen.

H.A. HOPPE [2] nennt namentlich :

Erythrophleum cambodianum, Erythrophleum lasianthum,
Erythrophleum succirubrum, Afrika -
Erythrophleum Laboucherii, Erythrophleum Coumingo,
Seychellen -
Erythrophleum chlorostachys, Australien -
Erythrophleum Fordii, südl. China.

Im folgenden Teil werden die morphologischen und anatomischen Merkmale der beiden afrikanischen Arten Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum gegenüber gestellt. Die alte aus Belgisch-Kongo importierte Sassyrinde wurde schon mehrfach in der Literatur beschrieben, hingegen fehlten bisher genauere pharmakognostische Beschreibungen der verwandten ebenfalls aus Belgisch-Kongo stammenden Erythrophleum africanum.

Die Gattung ERYTHROPHLEUM Afzel. gehört zur Familie der C a e s a l p i n i a c e a e .

In den Publication de l'institut national pour

---

[1] ZÖRNIG,H. Arzneidrogen II, p.126 (1911)
[2] HOPPE,H.A. Drogenkunde S.363; Verl.Cram, de Gruyter & Co., Hamburg 1948

l'étude agronomique du Congo Belge +) "Flore du Congo Belge et du Ruanda-Urundi" [1] wird die Gattung ERYTHROPHLEUM Afzel. folgendermaßen charakterisiert:

> "Wehrlose Bäume, Blätter doppelt gefiedert; Nebenblätter klein, fadenförmig, früh abfallend (sichtbar bei jungen Pflanzen); zwei- bis vierpaarig gefiedert, gegenständig oder fast gegenständig; Blätter alternierend, kurz gestielt. Blütenstände in traubigen Ähren, axillär gegen die Spitze der Zweige zu oder endständig, einzeln oder in Rispen; Deckblätter sehr klein oder fehlend. Blüten ☿ , klein, kurz gestielt; Vorblätter fehlend; Kelch glockenförmig mit fünf fast gleichen Lappen, dachziegelig; Petalen fünf, frei, dachziegelig, verkehrt lanzettlich; Staubblätter zehn, frei, ± gleich, mit fadenförmigen Filamenten, ± behaart; Antheren intors, breit elliptisch bis schwach abgerundet, am Rükken angeheftet; Konnektiv groß; Fruchtknoten gestielt, mit vielen Samenanlagen; Griffel kurz; Narbe wenig ausgeprägt. Hülsen länglich, abgeplattet, lederartig oder verholzt, aufspringend. Samen quergestellt, ± zusammengedrückt; Keimblätter plankonvex oder blattartig; Radicula kurz.
>
> Die Gattung umfaßt ±11 Arten in den Tropen der Alten Welt."

In der oben zitierten Flora [1] findet sich folgender Bestimmungsschlüssel für die in Belgisch-Kongo vorkommenden Arten:

> " A.) Blätter am Ende ± lang zugespitzt; Blütenstände zum Stiel hin kahl bis verkahlend und nach den Verzweigungen und Blüten zu fahlrot wolligfilzig; Sepalen an der Basis verwachsen; Filamente der Staubfäden kahl; Hülsen ledrig bis verholzt, an der Basis abgerundet, Stiel lateral angesetzt; Samen eiförmig bis elliptisch, Nährgewebsschicht dick; kleine Zweige und Blattrhachis kahl bis verkahlend .....
> .....1. E.guineense.

+) Durch Vermittlung dieses Instituts wurden 1956 die beiden von uns untersuchten Drogen importiert.

---

[1] Flore du Congo Belge et du Ruanda-Urundi III, 242 (1952)

B.) Blätter abgerundet und an der Spitze eingekerbt; Blütenstände weißlich-wolligfilzig; Sepalen frei; Filamente der Staubfäden behaart; Hülsen wenig ledrig bis ledrig, an der Basis sich verjüngend-keilförmig, Stiel median angesetzt; Samen fast kreisförmig, Nährgewerbsschicht dünn;

I. Die kleinen Zweige und die Blattrhachis filzigwollig bis behaart; die Blättchen besonders an den Nerven der Blattunterseite behaart .....
.....2. E.africanum.

II. Die kleinen Zweige und die Blattrhachis kahl bis verkahlend; Blättchen kahl ...
.....f.glabrissimum."

(Abb. 1,2)

Die Art Erythrophloeum africanum (Welw.) HARMS wurde erst 1913 von HARMS so genannt [1] , früher lief diese Art unter der Bezeichnung GLEDITSCHIA africana Welw., auch Erythrophloeum pubistamineum HENNINGS (Abb.2).

Der Befund der chemischen Untersuchung, daß im Gegensatz zu der sehr alkaloidreichen Rinde von Erythrophleum guineense die Rinde von Erythrophleum africanum praktisch alkaloidfrei ist, bestätigt eine Angabe von HARMS [1] und auch von DALZIEL [2] , der schreibt: "According to Harms (l.c.), the bark of this species does not appear to have the poisonous properties of the "Rotwasserbaum" (Erythrophleum guineense). On the other hand, the leaves are known to Hausas, Fulani and others as very poisonous to stock, and cattle are carefully prevented from grazing or travelling by routes where the trees of this species are known to occur".

Während die Anatomie der Rinde von Erythrophleum

---

[1] HARMS, H. in Fedde Repert. 12, 298 (1913)
[2] DALZIEL, J.M., The useful plants of West tropical Africa, p. 192 (1948)

guineense G.DON mehrfach beschrieben wurde [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12] , auch die von E. Couminga H.BON 10 und von E. Fordii, OLIV. [10] , haben wir in der Literatur keine Angaben über die Rindenanatomie von Erythrophleum africanum (Welw.) Harms gefunden.

2. Beschreibung der Rinde von Erythrophleum africanum:

Die ca. 9 mm dicken Rindenstücke waren außen glatt warzig, kakaobraun mit einzelnen dunkleren und helleren Stellen (Abb.4). Innen war sie dunkel-rotbraun bis schwärzlich, leicht flach-wellig längs-gerillt; der Bruch grobkörnig.

Das Lupenbild (Abb.5) zeigt nach außen zu eine etwa 1 mm breite Randzone, sonst war die ganze Rinde von gelblichen Punkten von einem Durchmesser bis zu 1 mm durchsetzt.

Das mikroskopische Bild zeigt keine Borkebildung.Lentizellen sind vorhanden. Der Kork ist vielschichtig, die

---

[1] MOELLER, Anatomie der Baumrinden, p.400 (1882)
[2] HOLFERT, Pharm.Centralhalle, p.446 (1888)
[3] HARTWICH,C., Chem.Ztg. 12, 428 (1888)
[4] HENNINGS,P., Gartenflora 38, 39 (1889)
[5] HARTWICH,C., Chem.Ztg. 14, 906 (1890)
[6] MOELLER, Real-Encyklopädie d.ges.Ph.IX,71 (1890)
[7] WEDEL, Beiträge zur Anatomie der Erythrophloeum- und verwandter Rinden, Diss.Erlangen 1892, zit. bei "H.ZÖRNIG"
[8] PLANCHON and COLLIN, Les Drogues Simples II,483 (1896)
[9] HARTWICH,C., Neue Arzneidrogen, p. 140, 378 (1897)
[10] PLANCHON, L., Ann.Inst.col.Marseille V, ser.2, 164 (1907)
" " IX, ser.2, 303 (1911)
[11] ZÖRNIG, H., Arzneidrogen II, p.126 (1911)
[12] MAPLETHORPE, C.W., Pharm.J. 113, 106 (1924)

Korkzellen sind dünnwandig, tangential gestreckt, nur ganz vereinzelt mit schwach verdickter und verholzter Innenwand. Die unmittelbar angrenzenden Parenchymschichten sind leicht kollenchymatisch ausgebildet. Im übrigen sind in das etwas tangential gestreckte Parenchym der Außenrinde kleinere Steinzellgruppen eingestreut (Abb.5). Diese Steinzellen sind relativ weitlumig und führen z.T. einen rotgefärbten Inhalt (Abb.9a). Den Abschluß der Außenrinde bildet ein geschlossener Sklerenchymring (Abb.5,9b). Ab und zu findet man am Rande dieser Steinzellnester rhombische Einzelkristalle. Diese sind sowohl einzeln als auch in kleinen Gruppen ebenfalls in der Innenrinde anzutreffen und durchschnittlich etwa 16 x 24 μ groß (Abb.9c). Fasern treten hier nur äußerst selten auf. Innerhalb dieser Perizykelzone weist die Rinde ausnehmend große Gruppen stark verdickter, teils gestreckter Steinzellen auf (Abb.9d), die z.T. auch lückenlos tangentiale Bänder bilden (Abb.5). Die sekundäre Rinde ist von sehr zahlreichen großen Steinzellnestern durchsetzt, welche die Markstrahlen und Rindenstrahlen zur Seite drängen, bzw. laufen diese in stark S-förmigen Kurven um die Steinzellkomplexe herum (Abb.5). In diesem Teil der Rinde findet man vereinzelte Bastfasergruppen (Abb.7, 9e) und zartwandige Zellen mit rotem Inhalt (Abb.7). Auch hier zeigen einzelne Steinzellen die erwähnten roten Einschlüsse. Während die Markstrahlen im inneren Teil der Rinde schmal, d.h. ein- oder zweizellig sind, verbreitern sie sich im äußeren Teil der sekundären Rinde und sind dann oft 4 Zellreihen breit (Abb.8). In diesem Abschnitt sind die Rindenstrahlen oft stark zusammengedrückt und äußerst schmal, weiter nach innen zu sieht man deutlich, wie sie sich abwechselnd aus tangentialen Bändern von zusammengedrücktem Siebgewebe und weitlumigen Zellen mit oft rotbraunem Inhalt aufbauen (Abb.7). Nur im allerinnersten Abschnitt der Rinde ist das Siebgewebe nicht kollabiert

und die Rindenstrahlen sind hier auch nicht aus ihrer ursprünglichen Richtung abgelenkt, da hier Steinzellnester fehlen. Die Zellen mit gelbrotem Inhalt bilden hier meist 3 - 4 fast lückenlose einreihige Bänder in tangentialer Richtung (Abb.6). Der Durchmesser dieser Zellen beträgt 16 - 40 µ und meist etwa 30 µ . Der Längsschnitt zeigt, daß sie in Achsenrichtung lang gestreckt (ihre Länge schwankt zwischen etwa 350 - 700 µ) und mit ihren abgerundet etwas spitz zulaufenden Enden seitlich ineinander verkeilt sind und so entstehen lange Sekret-, bzw. Exkretschläuche in vertikaler Richtung. Im radialen Längsschnitt fallen rundliche bis ovale, fast die ganze Breite des Schlauches einnehmende Veränderungen der Zellwand auf, die entfernt an die großen Tüpfel im Netzparenchym aus dem Mesokarp von Fructus Foeniculi erinnern (Abb.9f). Nach Mazeration mit 50 %iger Kalilauge in der Kälte zeigen diese Zellen ähnlich wie im tangentialen Längsschnitt das Bild der Abb.9g. Ob es sich hierbei um eine natürliche Struktur handelt oder um Artefakte, ist ohne die Untersuchung von Frischmaterial nicht zu entscheiden. Zur Diskussion steht jedenfalls entweder die Annahme einer - beginnenden (es handelt sich hier um den jüngsten Rindenteil mit noch dünnwandigen Zellen) - Tüpfelbildung des oben erwähnten Typs oder aber eine ähnliche Erscheinung, wie sie SOLEREDER bei Gerbstoffschläuchen im Bast bestimmter Chrysobalaneen beschreibt: deren Wandung sei an vielen Stellen halbkugelig ausgebuchtet, die des benachbarten Elements entsprechend vertieft, wodurch eine Verzahnung der sich berührenden weitlumigen Zellen bewirkt werde.

Ferner fällt im Weichbast eine netzleiterartige Tüpfelung der abgeschrägten Siebröhren (ihr Durchmesser beträgt etwa 20 - 24 µ) mit Siebplatten auf (Abb.9h). Die Bastfasern sind lang und dünn, ganz gerade und glatt und haben ein sehr enges Lumen (Abb.9i). Die Steinzellnester sind in Achsenrichtung lang gestreckt. Rundliche, 8 - 10 µ

große Stärkekörner (Abb.9k) sind im Rindenparenchym und in den Markstrahlen reichlich vorhanden.

3. Vergleich der Untersuchungsergebnisse mit den anatomischen Befunden von Erythrophleum guineense

Vergleicht man diese Untersuchungsergebnisse mit den anatomischen Befunden, welche die zitierten Autoren an verschiedenen Rinden von Erythrophleum guineense machten, so ist folgendes hervorzuheben:

Für den Aufbau aller beschriebenen Sassyrinden wäre als gemeinsames charakteristisches Merkmal hervorzuheben die Anordnung und auffallend große Anzahl von Steinzellnestern. (Bei unserer Droge von Erythrophleum guineense sind die Steinzellnester im Außenteil der Rinde radial gestreckt.)

Ein geschlossener sklerotischer Ring in der Perizykelzone wird von C.HARTWICH [1,2,3] und C.W.MAPLETHORPE [4] angegeben, MOELLER [5] erwähnt ihn nicht und L.PLANCHON [6] ebenso wie WEDEL [7] beobachteten in den meisten Fällen das Fehlen eines solchen geschlossenen Sklerenchymrings. Dieses Merkmal ist aber wohl von untergeordneter Bedeutung, da es möglicherweise durch unterschiedliches Alter der untersuchten Drogenmuster bedingt sein kann. Der Sklerenchymring könnte einer Borkebildung zum Opfer

---

[1] HARTWICH,C., Chem.Ztg.12, 428 (1888)
[2] HARTWICH,C., Chem.Ztg.14, 906 (1890)
[3] HARTWICH,C., Neue Arzneidrogen, p. 140, 378 (1897)
[4] MAPLETHORPE, C.W., Pharm.J. 113, 106 (1924)
[5] MOELLER, Anatomie der Baumrinden, p.400 (1882)
[6] PLANCHON, L., Ann.Inst.col.Marseille V, ser.2, 164 (1907)
" " IX, ser.2, 303 (1911)
[7] WEDEL, Beiträge zur Anatomie der Erythrophloeum- und verwandter Rinden, Diss. Erlangen 1892, zit. bei "H.ZÖRNIG"

gefallen sein. (Bei unserer Droge von Erythrophleum guineense fehlte dieser Ring.)

Allen untersuchten Sassyrinden gemeinsam ist ferner das Vorliegen rotbraun-gefärbter Zellinhaltsmassen.

Stark divergieren dagegen die Angaben über deren Lokalisation. Unseren eigenen Untersuchungsbefunden am nächsten stehen die Angaben von C.W.MAPLETHORPE [1] , der Zweige von Erythrophleum guineense G.DON aus Ostafrika in verschiedenen Entwicklungsstadien an Hand von Alkoholmaterial studierte. Er berichtet von "... four or five parallel, tangentially arranged, interrupted layers of cells with brown contents, the layers being separated from one another by two or six rows of parenchymatous cells or bast fibres. These tannin cells measure about 28 µ to 40 µ in transverse section, and are oval or roundet in outline. A longitudinal section or isolation by digestion with 2,5 per cent. solution of potassium hydroxide shows them to be axially elongated and arranged in vertical rows....". MOELLER [2] berichtet 1890: "..... zahlreiche Schläuche sind von einer rothbraunen Masse erfüllt". Demgegenüber schreibt HOLFERT [3] über "... mit braunem Inhalt verstopfte Siebröhren". Im Gegensatz zu den bisher aufgezählten Angaben berichten C.HARTWICH [4, 5] , L.PLANCHON [6] und WEDEL [7,8] von rotbraunem Inhalt im Parenchym. (In unserer Droge von Erythrophleum

---

[1] MAPLETHORPE,C.W., Pharm.J. 113, 106 (1924)
[2] MOELLER, Real-Encyklopädie d.ges.Ph.IX,71 (1890)
[3] HOLFERT, Pharm.Centralhalle, p.446 (1888)
[4] HARTWICH, C., Chem.Ztg.12, 428 (1888)
[5] HARTWICH, C., Neue Arzneidrogen, p.140, 378 (1897)
[6] PLANCHON, L., Ann.Inst.col.Marseille V, ser.2, 164 (1907)
" " IX, ser.2, 303 (1911)
[7] WEDEL, Beiträge zur Anatomie der Erythrophloeum- und verwandter Rinden, Diss.Erlangen 1892, zit. bei "H.ZÖRNIG"
[8] ZÖRNIG, H., Arzneidrogen II, p. 126 (1911)

guineense findet sich der rotbraune Inhalt in prinzipiell ähnlichen Exkretzellen wie bei Erythrophleum africanum, nur ist deren Anzahl vermehrt, außerdem auch noch in Parenchymzellen.)

Bei der Droge, die MOELLER [1] 1882 beschreibt, ist einmal bemerkenswert der Aufbau des Periderms aus gleichmäßig stark sklerosierten Tafelzellen. Die von demselben Autor 1890 [2] untersuchte Droge hat dagegen zartzelligen Kork. Bei PLANCHON und COLLIN [3] haben die Kolkzellen leicht verdickte Wände, bei C.W.MAPLETHORPE [4] sind dieselben leicht verholzt.

Angaben über die Ausbildung einer Borke finden wir außer in der genannten Untersuchung von MOELLER 1882 [1] noch bei HOLFERT [5] , der auch Korkwarzen erwähnt. L. PLANCHON [6] beschreibt ein Periderm, dessen Zellen mit brauner Substanz angefüllt sind. In diesem Periderm seien stark verdickte Korkzonen und Steinzellnester. (Unsere Droge von Erythrophleum guineense zeichnet sich durch sehr starke Borkebildung aus; zwischen den Korkzonen (Korkzellen unverholzt) liegen große tangentialgestreckte Steinzellbänder und teilweise verholzte Zellen, Zellen mit rotbraunem Inhalt - die Zellwände und die abgeschrägten Zellenden groß getüpfelt -, wie sie auch im älteren Teil der Rinde zu finden sind.)

MOELLER's Beschreibung der Parenchymzellen zitiert C. W.MAPLETHORPE [4] : "The parenchymatous cells have broad

---

[1] MOELLER, Anatomie der Baumrinden, p.400 (1882)
[2] MOELLER, Real-Encyklopädie d.ges.Ph.IX,71 (1890)
[3] PLANCHON and COLLIN, Les Drogues Simples II,483 (1896)
[4] MAPLETHORPE, C.W., Pharm.J. 113, 106 (1924)
[5] HOLFERT, Pharm.Centralhalle, p.446 (1888)
[6] PLANCHON, L., Ann.Inst.col.Marseille V, ser.2, 164 (1907)
" " IX, ser.2, 303 (1911)

pores and rather large cavities and posess on the side walls transversely elongated pores and at the end narrow scalariform sieve plates". Möglicherweise handelt es sich hier um einen ähnlichen Zelltyp.

Das Phelloderm wird von WEDEL [1,2] als dünnwandig beschrieben, HARTWICH [3] fand unter dem Kork ein Gewebe vom Charakter des Kollenchyms.

Auffallend ist zum zweiten aber bei der Droge von MOELLER (1882) [4] der Bau der Markstrahlen. Diese sind hier 4 - 6 Zellreihen breit. MOELLERs Droge von 1890 [5] hat hingegen nur 1 - 2-reihige Markstrahlen, desgleichen die von C.HARTWICH [6,7,3] , WEDEL [1,2] , L.PLANCHON [8] und C.W.MAPLETHORPE [9] . PLANCHON und COLLIN [10] berichten von schmalen Markstrahlen, die sich abrupt vergrößern, wenn sie das Rindenparenchym erreichen.

Darüberhinaus erwähnt MOELLER [4] , daß in dieser Rinde kaum irgendein Weichbast zu finden sei, in den älteren Teilen sei das Parenchym verdickt und verholzt. Bastfasern und Steinzellen bildeten Sklerenchymbänder, nur in den jungen Teilen lägen dünne Faserplatten. C.W.MAPLETHORPE [9] beschreibt in tangentialer Richtung gestreckte Bastfasergruppen. Dagegen treten bei HARTWICH [6,7,3]

---

[1] WEDEL, Beiträge zur Anatomie der Erythrophloeum- und verwandter Rinden, Diss. Erlangen 1892, zit. bei "H.ZÖRNIG"
[2] ZÖRNIG, H., Arzneidrogen II, p.126 (1911)
[3] HARTWICH, C., Neue Arzneidrogen, p.140, 378 (1897)
[4] MOELLER, Anatomie der Baumrinden, p. 400 (1882)
[5] MOELLER, Real-Encyklopädie d.ges.Ph.IX,71 (1890)
[6] HARTWICH, C., Chem.Ztg. 12, 428 (1888)
[7] HARTWICH, C., Chem.Ztg. 14, 906 (1890)
[8] PLANCHON, L., Ann.Inst.col.Marseille V, ser.2, 164 (1907)
" " IX, ser.2, 303 (1911)
[9] MAPLETHORPE, C.W., Pharm.J.113, 106 (1924)
[10] PLANCHON and COLLIN, Les Drogues Simples II,483(1896)

Bastfasern nur vereinzelt auf, ebenso bei HOLFERT [1] und WEDEL [2,3] , hier sind sie aber noch ein- und zweireihig von Kristallkammerfasern begleitet. Sowohl nach HARTWICH [4,5,6] als auch nach WEDEL [2,3] ist der Weichbast geschichtet aus Parenchym und tangentialen Gruppen zusammengefallener Siebröhren. Zellen mit Einzelkristallen sind hin und wieder anzutreffen, besonders in der Nähe der Steinzellnester; das beschreibt C.W.MAPLETHORPE [7] . (In unserer Droge von Erythrophleum guineense findet sich Weichbast, die Bastfasern bilden keine geschlossenen Platten, wenn sie auch zahlreicher auftreten als bei der von uns untersuchten Rinde von Erythrophleum africanum.

4. Diskussion

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die von uns untersuchte Droge von Erythrophleum guineense sich im Gegensatz zu der beschriebenen Rinde von Erythrophleum africanum durch eine sehr starke Borkebildung auszeichnet. Ähnlich wie bei Erythrophleum africanum beträgt der Durchmesser der Rinde etwa 9 mm, durch die Borkenauflagerungen von einigen mm Dicke ist sie aber insgesamt stärker. Bastfasern und besonders Exkretschläuche sind in größerer Zahl anzutreffen. Im innersten Teil der Rinde sind die Zellgruppen viel gedrängter. Die Gesamtmasse an rotbraunen Zellinhaltsstoffen ist viel größer.

---

[1] HOLFERT, Pharm.Centralhalle, p.446 (1888)
[2] WEDEL, Beiträge zur Anatomie der Erythrophloeum- und verwandter Rinden, Diss.Erlangen 1892, zit. bei "H.ZÖRNIG"
[3] ZÖRNIG, H., Arzneidrogen II, p.126 (1911)
[4] HARTWICH, C., Chem.Ztg. 12, 428 (1888)
[5] HARTWICH, C., Chem.Ztg. 14, 906 (1890)
[6] HARTWICH, C., Neue Arzneidrogen, p.140, 378 (1897)
[7] MAPLETHORPE, C.W., Pharm.J. 113, 106 (1924)

Inwieweit diese anatomischen Unterschiede für die betreffenden nahe verwandten Arten der Gattung Erythrophleum wesentliche Charakteristika darstellen, ließe sich nur durch vergleichende Untersuchungen an Pflanzen des gleichen Alters, des jeweils gleichen Entwicklungsstadiums, ermitteln.

Die unterschiedlichen Angaben in der zitierten Literatur erwecken den Eindruck, daß die zur Untersuchung vorgelegenen Drogen nicht nur von verschieden altem Material stammten, sondern z.T. wohl auch von verschiedenen nahe verwandten Arten der Gattung Erythrophleum; darüber hinaus wäre in dem einen oder anderen Falle eine unterschiedliche Deutung der beobachteten Merkmale denkbar.

B. Zur phytochemischen Charakterisierung von Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum

I. Unterschiede in der Flavonoid-Führung

1.) Analytischer Grundversuch: Löst man den Rückstand des aether. Auszuges der Drogen in wenig Methanol auf und setzt etwas Magnesiumpulver und Salzsäure zu, so treten auffallende Farberscheinungen auf, die eine Unterscheidung zwischen Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum erlauben:

Erythrophleum guineense gibt bei dieser Probe orangefarbene Reaktionen, bei Erythrophleum africanum hingegen wird die Probe intensiv violett.

Bei der beschriebenen Reaktion, die auf einfachem Wege zwischen den beiden Drogen zu unterscheiden erlaubt, handelt es sich um eine Prüfung auf Flavonoide nach SHINODA [1] . Es ist daher klar: die beiden genannten Erythrophleum Species müssen sich in ihrer Flavonoidführung beträchtlich unterscheiden. Ziel der im folgenden beschriebenen Untersuchung war es, aufzuklären, welche Inhaltsstoffe die Ursachen oben genannter Farbreaktionen sind.

Erythrophleum guineense war bereits früher von POWER und SALWAY [2] auf das Vorkommen von Flavonoiden untersucht worden und es war gelungen, Luteolin (5.7.3'.4' - Tetrahydroxyflavon) in geringen Ausbeuten zu isolieren.

---

[1] SHINODA, J., J.pharmac.Soc.Japan 48, 214 (1928)
[2] POWER,F.B. u. SALWAY,A.H., Amer.J.Pharm. 84, 333 (1912)
ref.C.II,1736 (1912)

Wir konnten uns daher auf eine papierchromatographische Überprüfung des früheren Befundes beschränken.

Über Erythrophleum africanum hingegen liegen bisher keine Angaben vor: Hauptaufgabe war es daher für uns, das Flavonoid aus Erythrophleum africanum zu isolieren, zu charakterisieren und nach Möglichkeit auch dessen Konstitution zu ermitteln.

2.) Papierchromatographische Untersuchung auf Flavonoide bei Erythrophleum guineense :

Wässrige oder alkoholische Auszüge der Rinde sind intensiv dunkel rotbraun verfärbt. Chromatographiert man diese Auszüge, so sind neben höher molekularen Gerbstoffen, Phlobaphenen und ähnlichen Produkten definierte Inhaltsstoffe aus dem Chromatogramm nur sehr schwer auszumachen. Zur chromatographischen Prüfung der Drogen auf Flavonoide müssen daher die ins Auge gefassten Inhaltsstoffe zunächst angereichert werden. Wie wir im Versuchsteil näher beschreiben, gelingt eine Anreicherung der Flavonoide durch Aetherextraktion der Droge im Soxhlet, wobei relativ wenig der oben erwähnten Ballaststoffe mit extrahiert werden. Nach Abdestillieren des Aethers nimmt man den Rückstand mit heissem Wasser auf und schüttelt nunmehr die wässerige Phase mit Aether aus.

Die so erhaltene Fraktion zeigt bei der Chromatographie im System Eisessig-Wasser (6 : 4) folgendes Bild: neben Pflanzensäuren und anderen Verbindungen sind im Chromatogramm zwei Flecke zu sehen, die auf das Vorkommen von Flavonen hinweisen. Durch Vergleich mit authentischem Luteolin konnte der eine der beiden Flecke RF = 0.5 dem Luteolin zugeordnet werden. Eine genaue Untersuchung der Substanz RF=0.65 wurde im Rahmen der vor-

liegenden Arbeit nicht vorgenommen. Einige Eigenschaften (papierchromatographisches Verhalten, Farbreaktionen) weisen auf das Vorliegen einer dem Luteolin homologen Substanz hin, möglicherweise handelt es sich um Apigenin.

Zusammenfassend: das Vorkommen von Luteolin in Erythrophleum guineense wurde bestätigt; das Vorkommen einer weiteren flavonoiden Substanz wurde erstmalig nachgewiesen.

3.) Ein neues Dihydroflavonol aus Erythrophleum africanum.

Wie weiter oben dargelegt wurde, enthält Erythrophleum africanum ein Flavonoid, das sich mit Magnesium und Salzsäure auffallend und intensiv violett verfärbt. Auch bei der papierchromatographischen Prüfung verhalten sich die Flavonoide von Erythrophleum africanum völlig abweichend gegenüber denen von Erythrophleum guineense. Die nächste Tabelle zeigt die Gegenüberstellung der Flavonoide aus Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum.

Tab. I

Papierchromatographischer Vergleich der Flavonoide in E. guineense(I) und E. africanum(II)

RF		Unbehandelt				alkohol. $ZrOCl_2$				alkohol. KOH				alkohol. $FeCl_3$	
		TL		UV		TL		UV		TL		UV		TL	
I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
0.65	0.65	sG	–	B	–[1] (D)[2]	G	G	GB	GrG	G	O→ Gr→ B	G	B	sGr	V
0.5	–	sG		B		G		GB		G		G		sGr	
	0.23		sG		G		G		GrG		Bl→ RB		G		oliv

Papier: SCHLEICHER & SCHÜLL 2043 bM;
Lösungsmittel: Eisessig – Wasser (6 : 4); aufsteigend
1) kurzwellige UV-Lampe: dunkel
2) wenn die PCG längere Zeit an der Luft gelegen hatten oder nach Bedampfen mit NH_3
B = braun; Bl = blau; D = dunkel; G = gelb; Gr = grün; O = orange; R = rot V = violett; s = schwach

Zunächst fällt auf, daß in Erythrophleum africanum keine Flavone vorkommen, vielmehr zeigt das Flavonoid von RF = 0.23 eine gelbe Färbung vor der Analysenquarzlampe und eine gelbgrüne Fluoreszenz mit $ZrOCl_2$. In dieser Hinsicht verhält sich das Flavonoid wie ein 3-Hydroxyflavon (Flavonol). Darüber hinaus gibt die Farbreaktion mit Lauge (zunächst blau, später rotbraun) einen Anhaltspunkt dafür, daß es sich um ein Poly-hydroxyflavon mit vicinalen Hydroxylgruppen handeln könnte. Die Isolierung dieser Verbindung wurde nicht angestrebt, da es sich später herausstellte, daß es sich um ein durch Lagerung oder Aufarbeitung der Droge entstandenes Oxydationsprodukt des Flavonoids RF = 0.65 handelte.

Eigenartig ist das Verhalten des eben genannten Flavonoids RF=0.65. Es handelt sich offenbar um eine oxydationsempfindliche Verbindung. Auf frisch angefertigten Chromatogrammen ist seine Lage weder im Tageslicht noch vor der UV-Lampe (Emissionsmax. 360 mμ) auszumachen. Es gibt sich nur vor der Purin-Lampe (Emissionsmax. 260 mμ) durch seine Fluoreszenzlöschung als dunkler Fleck zu erkennen. Läßt man jedoch die Chromatogramme einige Zeit an der Luft liegen, so wird es nunmehr auch vor der langwelligen Analysenquarzlampe als dunkler Fleck sichtbar. - Es verhält sich nun gegenüber verschiedenen Sprühreagenzien wie ein Flavonol.

Faßt man das bisher beschriebene Verhalten des in Erythrophleum africanum vorkommenden Flavonoids RF = 0.65 zusammen, so ergibt sich folgendes :

Das Flavonoid absorbiert maximal in Wellenbereichen unter 300 mμ, es ist oxydationsempfindlich, wobei sich das entstehende Oxydationsprodukt wie ein Flavonol verhält. Ein derartiges Verhalten ist bisher nur von den 3-Hydroxy-flavanonen, den sogenannten Flavanonolen (2,3-Dihydro-3-hydroxyflavanonen) bekannt. Dafür spricht

außerdem die Reduktion nach PEW [1], die modifiziert als Mikroreaktion ausgeführt wurde: bestäubt man den Chromatogrammfleck RF=0.65 mit etwas Zinkstaub, feuchtet mit 1 Tropfen Methanol und 1 Tropfen konz. Salzsäure an, so verfärbt sich dieser Fleck violett.

Der nächste Abschnitt berichtet über die Isolierung dieses eben beschriebenen Flavonoids RF = 0.65 aus Erythrophleum africanum.

---

[1] PEW, J.C. J.Amer.chem.Soc. 70, 3031-3034 (1948)

a) Isolierung des Flavonoids RF = 0.65 aus Erythrophleum africanum

Unsere papierchromatographischen Studien hatten den wichtigen Hinweis erbracht, daß zur Isolierung nur schonende Aufbereitungsmethoden Aussicht auf Erfolg versprachen. Ausgeschlossen werden mußten insbesondere Alkalien, alkalisch reagierende Reagenzien, höhere Temperaturen oder längeres Stehenlassen an der Luft.

Zunächst versuchten wir, aetherische Extrakte der Droge an Magnesol-Säulen aufzutrennen. Diese Versuche gaben wir auf, als sie zu keinen kristallinen Produkten führten.

Durch die grundlegenden Untersuchungen von W.GRASSMANN u. Mitarb. [1], sowie von L. HÖRHAMMER u. Mitarb. [2] und R.NEU [3] wurde in der letzten Zeit eine chromatographische Methode bekannt, die sich in zahlreichen Fällen zu präparativen chromatographischen Auftrennungen phenolischer Pflanzenstoffe bewährt hat: die Chromatographie an Kunststoffen vom Muster der Polyamide (Nylon, Perlon).

Polyamid weist bei der Trennung phenolischer Stoffe gegenüber den bisher verwendeten Adsorptionsmitteln wie Zellulose, Magnesol, Kieselgur u.a. den Vorteil wesentlich größerer Kapazität auf, da die Bindung der Phenole nicht nur an der Oberfläche, sondern auch im Innern des Polyamids durch Wasserstoffbrücken zwischen den phenolischen Hydroxylgruppen und der Amidgruppen erfolgt. Die Haftfestigkeit und damit der Trenneffekt der einzelnen

---

[1] GRASSMANN,W., H.ENDRES, W.PAUCKNER u. H.MATHES, Chem.Ber. 90, 1125 (1957)
[2] HÖRHAMMER,L., H.WAGNER u.W.LEEB, Naturwiss. 44, 513 (1957)
[3] NEU,R., Nature (London) 128, 660 (1958)

Phenole hängt weitgehend von der Anzahl der freien OH-Gruppen ab. Die Bindung läßt sich je nach Stärke mit einfachen Elutionsmitteln wie Wasser, Alkohole, Aceton u.a. aufheben [1].

Wie im Versuchsteil näher beschrieben wird, wurde zunächst 500 g der mit Petrolaether entfetteten Droge erschöpfend im Soxhlet mit Aether extrahiert, das Lösungsmittel verjagt und der Rückstand in 200 ml heißem Wasser aufgenommen. Die heiß filtrierte Lösung trübte sich nach dem Erkalten, sie wurde ohne weitere Filtration unmittelbar auf eine Chromatographiesäule (3 cm Ø 38 cm), die mit Polyamid (Versuchsprodukt PP 15 Sp der BASF) beschickt war, aufgegeben.

Nach Entwickeln mit 20 %igem Methanol bildeten sich nach ca. 12 Stunden deutlich sechs Zonen aus, die nunmehr mit insgesamt 600 ml 50 %igem Methanol eluiert wurden. Die Trennung wurde vor der Analysenquarzlampe verfolgt und jede der sechs Zonen einzeln aufgefangen. Nach drei Tagen war es gelungen, sechs von den insgesamt sieben ausgebildeten Zonen vollständig zu eluieren. (Die 7. Zone und eine Zwischenzone 5a bildeten sich während der Elution aus. Näheres siehe Versuchsteil.)

Die papierchromatographische Prüfung der einzelnen Zonen ergab, daß sich das von uns gesuchte Flavonoid RF = 0.65 (RF im System Eisessig-Wasser (15 : 85) = 0.51) in einer dunkelviolett laufenden Zone (5.Zone) befand.

Nach Einengen im Vakuum hinterblieb ein schwach gelber kristalliner Rückstand, der mehrmals aus heißem Wasser umkristallisiert wurde. Insgesamt wurden auf diese Weise 4 kg Droge aufgearbeitet, die 4 g der gesuchten Substanz lieferten entsprechend 0,1 %. Die Substanz er-

---

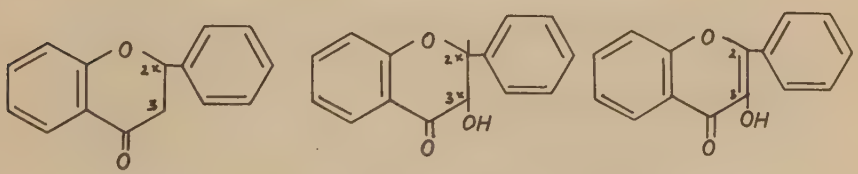
[1] HÖRHAMMER,L. u. H.WAGNER, Pharmaz.Ztg.104, 783 (1959)

wies sich papierchromatographisch als einheitlich, sie bestand mikroskopisch aus feinen, farblosen Nadeln, die bei 225 - 227°C unter Zersetzung schmolzen.

b) Identifizierung des Flavonoids RF = 0.65 als (+)-2.3-Dihydro-Myricetin.

Die Kristalle lösen sich leicht in Methanol, Aethanol, Aceton und heißem Wasser; sie sind mäßig löslich in Aether, nahezu unlöslich in stark lipophilen Lösungsmitteln wie Petrolaether und Benzol.

Bei den Reduktionsproben nach SHINODA [1] und PEW [2] verhält sich die Substanz wie ein typisches Flavonoid; der stark positive Ausfall der PEW-Reaktion weist darüber hinaus auf das Vorliegen eines 2.3-Dihydroflavonols hin.



Flavanon | *3-Hydroxyflavanon (2.3-Dihydroflavonol)* | *Flavonol*

* *optisch aktive C-Atome*

Mit dieser Annahme des Vorliegens der 2.3-Dihydrostruktur steht in Übereinstimmung das Absorptionsspektrum der Verbindung im UV-Bereich. Die Verbindung zeigt ein Maximum bei 292 mμ ($E_{spec.}$ 49.2) und ein Minimum bei 254 mμ ($E_{spec.}$ 7.5).

---

[1] SHINODA,J.,J.pharmac.Soc.Japan 48, 214 (1928)
[2] PEW,J.C., J.Amer.chem.Soc.70, 3031-3034 (1948)

Flavone mit einer Doppelbindung zwischen Kohlenstoffatom 2 und 3 unterscheiden sich in ihren Absorptionskurven durch zwei charakteristische Banden, insbesondere durch eine Bande im Bereich zwischen 340 - 380 mμ.

Ein Hinweis für die Flavanonstruktur ist weiterhin die optische Aktivität der Substanz $[\alpha]_D^{20} = +41{,}7^\circ$. Flavone besitzen im Gegensatz zu den Flavanonen keine optisch aktiven C-Atome. Hydrolyseversuche zeigten darüber hinaus, daß die optische Aktivität nicht vom Zuckeranteil eines Glykosides herrühren konnte.

Die Ergebnisse der Elementaranalysen (insgesamt 4 Bestimmungen) stimmen sehr gut auf die Summenformel $C_{15}H_{12}O_8$:

Ber.	C 56.25 %	H 3.78 %	O 39.97 % +)
Gef.	C 56.00 %	H 4.00 %	O 40.00 %

Zwei Sauerstoffatome sind durch den γ-Pyronring festgelegt, sechs weitere Sauerstoffatome liegen als acetylierbare Hydroxy-Gruppen vor:

Hexaacetat Smp. 117 - 118°C; $[\alpha]_D^{20} = +46^\circ$ (Aceton)

$C_{27}H_{24}O_{14}$ (572.48); CH_3CO Ber.45.11 %
CH_3CO Gef.44.50 %

Während die ursprüngliche Substanz mit alkohol.$FeCl_3$-Lösung violett wird, zeigt das Acetat keine Reaktion.

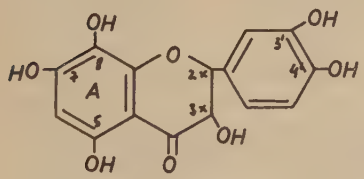
Auffallend ist das Verhalten der Verbindung gegenüber Alkalien: eine alkoholische Lösung zeigt bei Zugabe von wenig Natronlauge eine orangerote Farbe, die sofort über grün, blau nach braun umschlägt.

Die eben beschriebene Reaktion, dieser Farbwechsel mit Laugen, ist in der Flavonoidreihe sehr auffallend;

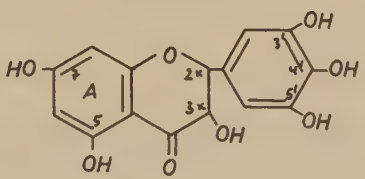
+) Sauerstoff direkt bestimmt

die Mehrzahl der Flavone verfärben sich mit Lauge zu gelb oder orange gefärbten Verbindungen. - Farbwechsel über grün bzw. blau nach braun ist bisher nur bekannt von Flavonoiden mit vicinaler Anordnung der Hydroxylgruppen im Seitenphenyl oder mit OH-Gruppen in 5, 7 und 8 Stellung des Ringes A. [1,2]

In diesem Stadium der Untersuchung gelangten wir durch Kombination der Bruttoformel mit der beschriebenen Farbreaktion zu folgender Arbeitshypothese : Flavonoid RF = 0.65 könnte ein Dihydrogossypetin (I) oder ein Dihydromyricetin (II) sein.



I



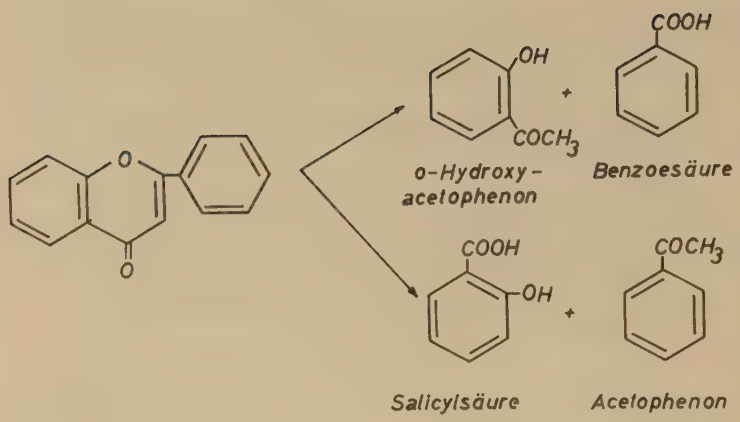
II

Die beiden folgenden Reaktionen erlaubten eindeutig eine Entscheidung zu Gunsten der Formel II, nämlich die Alkalispaltung und die Dehydrierung mit $NaHSO_3$.

α.) Alkalispaltung: Die klassische Methode der Strukturaufklärung der Flavonoide ist die Alkalispaltung; es entstehen zwei ketonische Spaltprodukte neben zwei Säuren : [3]

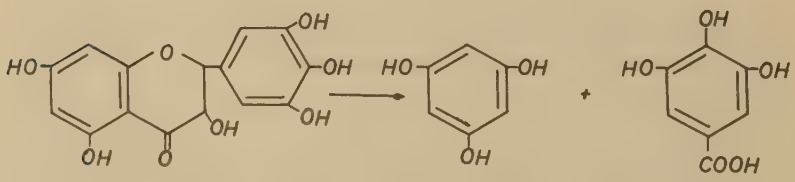
---

[1] BARGELLINI,G. zit. bei L.ZECKMEISTER, Fortschritte d. Chemie org.Naturstoffe,Bd.XVII,S.12
[2] AHLUWALIA,V.K.,N.R.KRISHNASWAMI,S.W.MUKERJEE,V.V.S. MURTI , T.R.SESHADRI, F.A.Sc., and C.VENKATARAMANI Proc.Indian. Acad.Sci., 47A, 230 (1958)
[3] MAYER,F.u.A.H.COOK The Chemistry of Natural Coloring Matters Reinhold Publishing Corporation,New York 1943



3-Hydroxyflavone (2.3-Dihydroflavonole) verhalten sich gegenüber Alkali etwas verschieden. In 8 %iger NaOH-Lösung findet Luftoxydation zum korrespondierenden Flavonol statt, als Nebenprodukt entsteht unter Öffnung des Ringes eine Säure. [1]

Mit 40 %iger KOH-Lösung oder Schmelze mit festem KOH führt zu tiefgreifenden Veränderungen unter Bildung eines Phenols und einer Säure : [2]



---

[1] OYAMADA, T. Liebigs Ann.Chem. 538, 44 (1939)
[2] KOTAKE,M. und T.KUBOTA, ibid. 544, 253 (1940)

Durch Kalischmelze erhielten wir aus unserem Flavanoid RF = 0.65 Phloroglucin und Gallussäure. Die Spaltprodukte wurden papierchromatographisch durch Vergleich mit authentischen Substanzen identifiziert.

β. Dehydrierung zum Myricetin

In der Literatur sind mehrere Verfahren der Dehydrierung von 2.3-Dihydroflavonolen zu den korrespondierenden Flavonolen beschrieben:

1. Einwirkung von schwachen Alkali auf das Methylprodukt, wobei die OH-Gruppe in 3 Stellung nicht methyliert sein darf. [1,2]

2. Dehydrierung mit Palladium und Zimtsäure als H_2-Akzeptor. [2,3]

3. Luftoxydation einer heißen wäßrigen Lösung in saurem Medium. [4,5]

4. Dehydrierung mit $NaHSO_3$ in wäßriger Lösung. [6]

Wenn unsere bisherigen Annahmen richtig waren, so mußte sich unser aus Erythrophleum africanum gewonnenes Flavonoid zu dem gut bekannten Myricetin dehydrieren lassen.

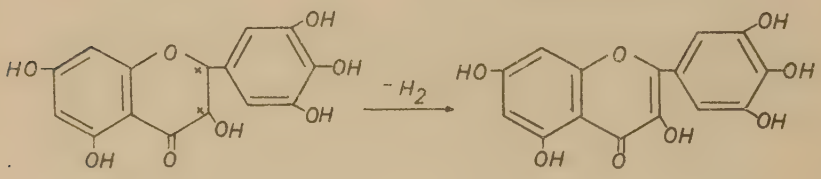
Vorversuche hatten gezeigt, daß diese Dehydrierung durch längeres Erhitzen unter Luftdurchleiten stattfand. Papierchromatographisch ließ sich ein Flavonol nachweisen, außerdem gibt das Dehydrierungsprodukt beim TAUBÖCK-Test [7] eine intensiv gelbgrüne Fluoreszenz, was für

---

[1] OYAMADA,T. Liebigs Ann.Chem. 538, 44 (1939)
[2] KOTAKE,M. und T.KUBOTA, ibid. 544, 253 (1940)
[3] LINDSTEDT,G.,Acta Chem.Scand. 4, 772 (1950)
[4] PEW,J.C.,J.Amer.Chem.Soc. 70, 3031 (1948)
[5] FREUDENBERG,K. u. L.HARTMANN, Liebigs Ann.Chem. 587, 207 (1954)
[6] KURTH,E.F., H.L.HEGERT u.J.D.ROSS, J.Amer.Chem.Soc. 77, 1621 (1955)
[7] TAUBÖCK,K., Naturwiss. 30, 439 (1942)

Flavonole charakteristisch ist.

Wir fanden, daß in unserem Falle die besten Ausbeuten erzielt wurden, wenn die Dehydrierung mit $NaHSO_3$ in wäßrigem Medium nach der Methode von KURTH u.Mitarbeitern [1] durchgeführt wird. Aus 0,6 g der farblosen Ausgangsverbindung erhielten wir 0,4 g eines einheitlichen tiefgelb gefärbten Produktes, das in allen Eigenschaften mit authentischem Myricetin übereinstimmte.



In Tabelle II sind die Eigenschaften unseres Dehydrierungsproduktes und die authentischen Myricetins zusammengestellt. Einzelheiten sind im Versuchsteil beschrieben.

---

[1] KURTH,E.F., H.L.HEGERT u.J.D.ROSS, J.Amer.Chem.Soc. 77, 1621 (1955)

Tab. II

	Dehydrierungs-produkt	authentisches Myricetin
Smp.	>320° (Zers.)	>320° (Zers.)
Smp.Acetat	215 - 217°	215 - 217°
RF Werte a.)	0.41	0.41
RF Werte b.)	0.23	0.23
Reduktion n.SHINODA	violettrot	violettrot
alkohol. $FeCl_3$	olivgrün → braunrot	olivgrün → braunrot
alkohol. KOH	tiefblau → dunkelorange	tiefblau → dunkelorange
TAUBÖCK-Test	gelbgrüne Fluoreszenz	gelbgrüne Fluoreszenz
nachgewiesene Spaltprodukte	Phloroglucin Gallussäure	Phloroglucin Gallussäure
UV-Absorption Maxima λ (mμ)	375,(304),254	376,(304),255
Minima λ (mμ)	(311),287,240	(311),288,240

a.) n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5)
b.) Eisessig-Wasser (6 : 4)

γ) Reduktion zum Flavyliumsalz

Ein weiterer Beweis für die Konstitution unseres Flavonoids als (+)-2.3-Dihydromyricetin ist die Reduktion zum Flavyliumsalz nach der von PACHECO [1] angegebenen Methode. Das auf diese Weise erhaltene Flavyliumchlorid stimmte in allen geprüften Eigenschaften über-

[1] PACHECO,H., Bull.Soc.chim.France, 1956, 1600

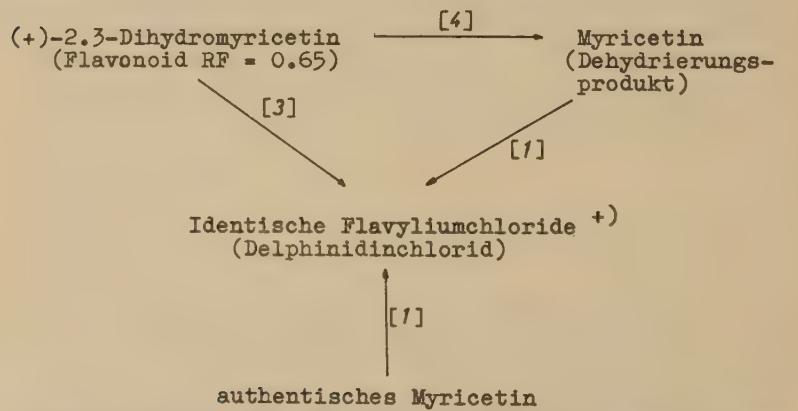
ein mit dem nach der Methode von KING u. WHITE [1] aus authentischem Myricetin erhaltenen Flavyliumchlorid. Ebenso waren identisch die Flavyliumchloride unseres Dehydrierungsproduktes aus Flavonoid RF = 0.65 und aus authentischem Myricetin.

Tab. III

	Flavyliumchloride		
	aus Flavonoid RF = 0.65	aus Dehydriergs.-produkt	authent. Myricetin
RF (FORESTAL) +)	0.3	0.3	0.3
Absorptionsmax. λ (mμ) (in Isoamylalkohol)	558	558	558

+) Delphinidin RF = 0.3 [2]

Die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Reaktionen zeigt noch einmal in übersichtlicher Form das folgende Schema :



+) Flavyliumchloride der drei Produkte stimmten in ihren Absorptionsmaxima und in ihren RF-Werten überein.

[1] KING,H.G.C. u.T.WHITE,J.chem.Soc.(London),1957,3901
[2] BATE-SMITH,E.C. Biochem.J.58, 123 (1954)
[3] PACHECO, H., Bull.Soc.chim.France, 1956, 1600
[4] KURTH,E.F.,H.L.HEGERT u.J.D.ROSS,J.Amer.Chem.Soc. 77,1621 (1955)

c.) Die Beziehungen zwischen unserem neuen (+)-2.3-Dihydromyricetin zu dem Ampelopsin.

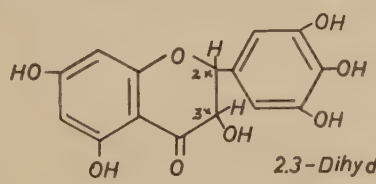
Im vorhergehenden wurde bewiesen, daß unserem aus Erythrophleum africanum isolierten Flavonoid eindeutig die Konstitution eines (+)-2.3-Dihydromyricetins zukommt. Ein Naturstoff für den die gleiche Konstitution angegeben wird, wurde bereits früher aus Ampelopsis meliaefolia von KOTAKE und KUBOTA[1] isoliert.

Die folgende Tabelle zeigt, daß das von KOTAKE beschriebene Ampelopsin mit unserem aus Erythrophleum africanum isolierten (+)-2.3-Dihydromyricetin in mehreren physikalischen Daten nicht übereinstimmt :

Tab. IV

	Ampelopsin aus Ampelopsis meliaefolia	Dihydromyricetin aus Erythrophleum africanum
Smp.	245 - 246°	225 - 227°
Smp. Hexaacetat	173 - 174°	117 - 118°
Drehung $[\alpha]_D^{20}$	± 0°	+ 41.7° (Aceton:Wasser 1:1)

Der auffallendste Unterschied liegt in der optischen Drehung: unser Dihydromyricetin ist stark rechtsdrehend, Ampelopsin ist dagegen optisch inaktiv.



2.3-Dihydromyricetin

[1] KOTAKE,M. u. T.KUBOTA, Liebigs Ann.Chem.544,253 (1940)

Das 2.3-Dihydromyricetin besitzt zwei asymmetrische Zentren (C-Atome 2 und 3) und kommt demnach in vier optisch aktiven und zwei Racemformen vor.

Daraus ergibt sich, daß das Ampelopsin eine der beiden Racemformen darstellt, während unser aus Erythrophleum africanum isoliertes Dihydromyricetin eine der beiden optisch aktiven rechtsdrehenden Formen sein muß.

Ob unser Dihydromyricetin zum Ampelopsin im Verhältnis der Diastereomerie steht, oder ob es sich um eine der beiden Spiegelbildisomeren des Ampelopsin handelt, kann vorerst nicht entschieden werden.

II. Vergleichende Untersuchung der Alkaloidführung von Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum.

Es kann in der Phytochemie geradezu als Regel gelten, daß nahe verwandte Arten chemisch ähnlich gebaute Alkaloide enthalten. Diese phytochemische Regel scheint beim ersten Ansehen in unserem Falle bei Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum durchbrochen.

Die Rinde von Erythrophleum guineense zeichnet sich durch hohe Toxizität aus; wird doch die Rinde seit ältesten Zeiten von den Eingeborenen als Ordal- und Pfeilgift verwendet. Die Rinde der mit Erythrophleum guineense nahe verwandten Erythrophleum africanum dagegen gilt als praktisch ungiftig.

Es drängen sich folgende Fragen auf :

a) Sind beide Species alkaloidführend und bestehen nur Unterschiede in der Toxicität der in beiden Arten vorkommenden Alkaloiden,

b) enthalten die beiden Arten dieselben Alkaloide und beruhen die Toxicitätsunterschiede der beiden Drogen nur auf einer unterschiedlichen Alkaloidkonzentration,

c) unterscheiden sich beide Species stoffwechselphysiologisch dadurch, daß etwa Erythrophleum africanum nur zur Synthese einer Alkaloidvorstufe - z.B. des Diterpen- oder Aminoalkoholanteils der typischen Erythrophleum-Alkaloide - befähigt ist ?

Daß sich die beiden Species in der Alkaloidführung möglicherweise nur in quantitativer Hinsicht unterscheiden, dafür sprachen von vornherein einige Literaturangaben :

Einmal weiß man, daß die Blätter von Erythrophleum

africanum ähnliche Vergiftungserscheinungen hervorrufen wie von Erythrophleum guineense [1,2] , und daß auch die Rinde ganz geringe Mengen amorpher Basen enthält [3].

Über Erythrophleum guineense andererseits liegen Angaben vor, die sowohl für eine Variabilität des quantitativen Alkaloidgehaltes [3,4,5] als auch für einen qualitativen Unterschied in der Alkaloidführung sprechen. So konnten DALMA [5] und TONDEUR [3] aus einigen Rinden von Erythrophleum guineense kein Cassain, sondern nur erythrophleinähnliche Basen isolieren.

Vielfach werden diese Divergenzen jedoch auf schlecht definierbare Unterarten zurückgeführt [5] .

Um die aufgeworfenen Fragen zu klären, war es zunächst notwendig, eine empfindliche analytische Methode für die Erythrophleum-Alkaloide auszuarbeiten. Als Vergleichs- und Bezugssubstanz mußte weiterhin das Cassain erneut isoliert werden.

1.) Papierchromatographische Auftrennung der in Erythrophleum guineense vorkommenden Alkaloide.

a) Literaturübersicht der bisher aus Erythrophleum guineense isolierten Alkaloide :

Seit der Entdeckung des Erythrophleins, einer amorphen Base, durch GALLOIS und HARDY 1875 [6] sind die Rinden

---

[1] HARMS,H., in Fedde Repert. 12, 298 (1913)
[2] DALZIEL,J.M., The useful plants of West tropical Africa, p.192 (1948)
[3] ENGEL,B.G. u. R.TONDEUR,Helv.chim.Acta 32, 2364 (1949)
[4] POWER,B. u. A.SALWAY, Amer.J.Pharm.84, 333 (1912)
[5] DALMA,G. Helv.chim.Acta 22, 1497 (1939)
[6] GALLOIS,N. u. E.HARDY, Compt.rend.80, 1221 (1875) J.Pharm.Chim.24, 25 (1876)

Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Arbeit geblieben. Aber erst 1935 gelang es DALMA [1,2] ein neues kristallines Alkaloid, das Cassain, zu isolieren. In den folgenden Jahren wurde über die Isolierung drei weiterer kristalliner Basen berichtet: Cassaidin [3], Erythrophlamin und Cassamin [4].

Chemie der Alkaloide: Die Erythrophleumalkaloide sind Alkaminester von tricyclischen Monocarbonsäuren der Diterpenreihe. Die Esternatur der Verbindungen wurde schon 1882 [5] entdeckt und später durch eine Partialsynthese des Cassains [6] bestätigt. Übereinstimmend lassen sich die Alkaloide folgendermaßen hydrolytisch aufspalten :

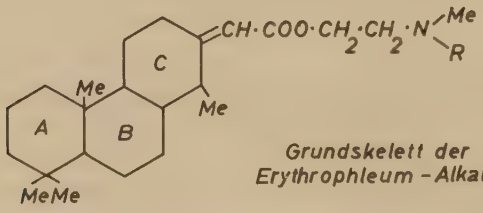
$C_{24}H_{39}O_5N$ ⟶	$C_{21}H_{32}O_5$	+ CH_3-NH-CH_2-CH_2OH	[7]
Erythrophlein	Erythrophleinsäure	+ β-Monomethylaminoaethanol	
$C_{24}H_{39}O_4N$ ⟶	$C_{20}H_{30}O_4$	+ $(CH_3)_2$N-CH_2-CH_2OH	[6]
Cassain	Cassainsäure	+ β-Dimethylaminoaethanol	
$C_{24}H_{41}O_4N$ ⟶	$C_{20}H_{32}O_4$	+ $(CH_3)_2$N-CH_2-CH_2OH	[3]
Cassaidin	Cassaidinsäure	+ β-Dimethylaminoaethanol	
$C_{25}H_{39}O_6N$ ⟶	$C_{21}H_{30}O_6$	+ $(CH_3)_2$N-CH_2-CH_2OH	[4]
Erythrophlamin	Erythrophlaminsäure	+ β-Dimethylaminoaethanol	
$C_{25}H_{39}O_5N$ ⟶	$C_{21}H_{30}O_5$	+ $(CH_3)_2$N-CH_2-CH_2OH	[4]
Cassamin	Cassaminsäure	+ β-Dimethylaminoaethanol	

---

[1] DALMA, G., Ann.Chim.Applicata, 25, 569 (1935)
[2] DALMA, G., Helv.chim.Acta 22, 1497 (1939)
[3] RUZICKA, L. u. G. DALMA, Helv.chim.Acta 23,753 (1940)
[4] ENGEL, B.G. u. R. TONDEUR, Experientia 4, 430 (1948)
Helv.chim.Acta 32, 2364 (1949)
[5] HARNACK,E. u. ZARBROCKY, R. Arch.exper.Path.Pharmak. 15, 404 (1882)
[6] FALTIS,F. u. L.HOLZINGER, Chem.Ber.72, 1443 (1939)
[7] BLOUNT,B.K., H.T.OPENSHAW u. A.R.TODD, J.chem.Soc. 1940, 286

Die erhaltenen Säuren sind ungesättigte Hydroxy- und Ketocarbonsäuren (Erythrophlein-, Erythrophlamin- und Cassaminsäure enthalten noch eine Methoxylgruppe, während Cassaidinsäure anstelle der Methoxylgruppe eine zweite Hydroxylgruppe hat) mit einer Doppelbindung in αβ-Stellung zur Carboxylgruppe und liefern bei der Dehydrierung mit Selen 1.2.8-Trimethylphenanthren [1,2] .

Die Konstitution der gesättigten hydroxyl- und carbonylfreien Stammsäure des Cassains - die Cassansäure - konnte 1958 durch Partialsynthese aufgeklärt werden [3] .



Grundskelett der Erythrophleum-Alkaloide

b) Die Isolierung von Cassain zu Vergleichszwecken

Zur Isolierung von Cassain benutzten wir im wesentlichen die Methode von DALMA [4], jedoch extrahierten wir die Droge nach Befeuchten mit Ammoniak im Soxhlet.

Der aetherische Extrakt wurde mit Kalilauge gewaschen, die Alkaloide mit 0.5 n-Salzsäure ausgezogen und die Basen nach Alkalisieren der salzsauren Lösung wieder in Aether aufgenommen. Aus der aetherischen Basenlösung wurden die Alkaloide dann durch eine aetherische Schwefelsäurelösung als Salze ausgeschieden, in Alkohol

---

[1] BLOUNT, B.K., H.T.OPENSHAW u. A.R.TODD, J.chem.Soc. 1940, 286
[2] RUZICKA, L. u. G.DALMA, Helv.chim.Acta 23, 753 (1940)
[3] KING,F.E., T.J.KING u.J.M.UPRICHARD, J.chem.Soc. 1958,3428
[4] DALMA,G., Helv.chim.Acta 22, 1497 (1939)

aufgenommen und nach Zusatz von Aether zur Kristallisation im Kühlschrank über Nacht stehen gelassen.

Die auskristallisierten Bisulfate wurden mehrmals mit Methanol umkristallisiert.

Weiße Kristallplättchen Smp. 292 - 294° (Zers.)

Das Cassain, das wir aus dem Bisulfat erhielten, wurde wiederholt aus Aether umkristallisiert. Weiße glänzende Plättchen Smp. 142.5° (DALMA [1] 142.5°)
$[\alpha]_{28}^{D}$ = - 110° (Aethanol 90 %) DALMA [1] $[\alpha]D$ = - 113°)
Aus 2 kg Droge erhielten wir 1.2 g reines Cassain.

Die Menge an amorphen Alkaloiden, die wir aus den aetherisch-alkoholischen Mutterlaugen des Cassainbisulfates gewinnen konnten, betrug 4.5 g.

c) Papierchromatographie

Bei den zu erwartenden geringen Alkaloidmengen bei Erythrophleum africanum konnte für uns nur eine papierchromatographische Auftrennung der Alkaloide in Betracht kommen.

Versuche, die Alkaloide mit einem sauren Fließmittel aufzutrennen, waren erfolglos. Es wurde immer nur ein mehr oder weniger lang gestreckter Fleck erhalten, wobei es gleichgültig war, ob die freien Basen oder ihre Salze aufgetragen wurden.

Mit gutem Erfolg konnten wir dann eine Arbeit von D.WALDI [2] über die systematische Analyse von Alkaloiden auf die Erythrophleum-Alkaloide anwenden.

---

[1] DALMA,G., Helv.chim.Acta 22, 1497 (1939)
[2] WALDI,D., Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 292, 206 (1959)

Hierzu wurden die Papiere mit Formamid als stationäre Phase imprägniert und die Alkaloide mit schwach basischen Fließmitteln verschiedener Polarität entwickelt.

Von den vorgeschlagenen Lösungsmittelsystemen eignete sich am besten Formamid/Petroleum-Diaethylamin (9+1; aufsteigend).

Nach Trocknen der Chromatogramme (7 Min. bei 110 - 120°) wurden die Alkaloide unter der kurzwelligen UV-Lampe (Emissionsmax. bei 260 mμ) als dunkle oder nach Besprühen mit Jodplateat-Lösung als violette Flecken sichtbar.

Es gelang uns auf diese Weise, das Alkaloidgemisch von Erythrophleum guineense in 6 Flecken aufzutrennen. Da die RF-Werte nicht immer reproduzierbar sind, wird nach WALDI [1] bei jedem Chromatogramm eine Standardsubstanz mitlaufen gelassen und der auf den Standard korrigierte RF_k-Wert folgendermaßen berechnet :

$$RF_k = \frac{RF \cdot st}{RF_{st}}$$

RF = gefundener RF-Wert der Substanz
st = RF-Wert der Standardsubstanz (Mittelwert)
RF_{st} = gefundener RF-Wert des Standards

In unserem Falle wählten wir als Standardsubstanz das reine Cassain, dessen RF-Wert = st auf 0.43 festgesetzt wurde.

In der aufgeführten Tabelle sind die RF_k-Werte angegeben und die einzelnen Flecke mit g1, g2 ..... usw. bezeichnet :

---

[1] WALDI, D., Arch.Pharmaz. Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 292, 206 (1959)

Tab. V

Bezeichng. der Flecken	hRF_k-Wert +)
g1	16
g2	32
g3	43
g4	53
g5	74
g6	89

+) hundertfacher RF_k-Wert

2.) Papierchromatische Auftrennung der in Erythrophleum africanum vorkommenden Alkaloide

Zur Isolierung der Alkaloide wurde die feingepulverte Droge mit Ammoniak durchfeuchtet und im Soxhlet erschöpfend mit Aether extrahiert. Der aetherischen Lösung wurde, nach Reinigung mit Kalilauge, die Basen mit 0.5 n-Salzsäure entzogen und nach Alkalisieren der salzsauren Lösung die Alkaloide mit Aether wiederaufgenommen.

Nach Abdestillieren des Aethers hinterblieb ein schwach gelbgefärbter, firnisartiger Rückstand.

Aus 500 g Droge wurden 40 mg amorphe Alkaloide (= 0.008 %) gewonnen.

Papierchromatographisch erwies sich dieser Rückstand als nicht einheitlich; im System Formamid/Petroleum-Diaethylamin (9 : 1; aufsteigend) erfolgte eine Auftrennung in sieben - zehn Flecken, deren RF_k-Werte in der folgenden Tabelle aufgeführt sind (Bezeichnung der einzelnen Flecken a1, a2 ..... usw.) :

Tab. VI

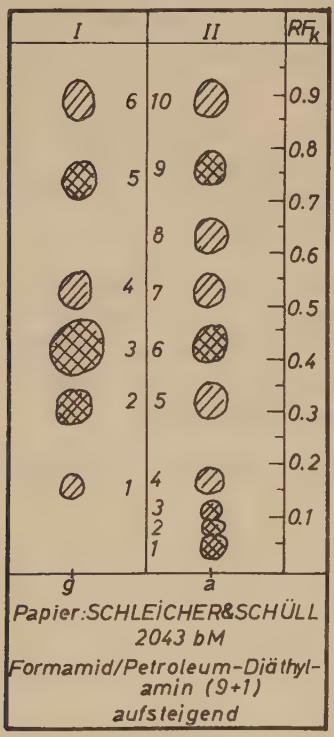
Bezeichng. der Flecken	hRF_k-Wert +)
(a1	4)
(a2	8)
(a3	11)
a4	17
a5	32
a6	43
a7	53
a8	64
a9	76
a10	90

+) hundertfacher RF_k- Wert

Einschränkend sei erwähnt, daß die Auftrennung im tiefen RF-Bereich nicht ideal war, doch ließ die Form der Flecken auf das Vorliegen von drei Substanzen schließen.

Die nächste Abbildung zeigt nebeneinander die Chromatogramme von Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum. Die verschieden starke Schraffierung der Flecke bezieht sich auf die Stärke der Anfärbung mit Jodplateat-Lösung.

Papierchromatographischer Vergleich der Alkaloide in Erythrophleum guineense (I) und Erythrophleum africanum (II)



Vergleicht man die beiden Chromatogramme, so zeigen einige Alkaloidflecke von Erythrophleum africanum gute Übereinstimmung mit denen von Erythrophleum guineense. Durch Vergleich konnte der Fleck a6 dem Cassain zugeordnet werden.

Faßt man die Ergebnisse unserer Untersuchungen zusammen, so ergibt sich :

1. Für die analytische Trennung des kompliziert zusammengesetzten Alkaloid-Gemisches hat sich die papierchromatographische Technik von WALDI [1] bewährt.
2. Beide Erythrophleum-Arten sind alkaloidhaltig, doch bestehen beträchtliche quantitative Unterschiede (Erythrophleum guineense 0.29 % - Erythrophleum africanum 0.008 %).
3. Trotz der geringen Alkaloidmengen von Erythrophleum africanum scheint die Zusammensetzung noch komplizierter zu sein als bei Erythrophleum guineense; hierfür sprechen besonders die Alkaloidflecken im tiefen RF-Bereich.

In beiden Arten konnte Cassain nachgewiesen werden.

---

[1] WALDI, D. Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 292, 206 (1959)

C. Zusammenfassung

1. Die Rindendroge von Erythrophleum africanum (Welw.) HARMS wird erstmalig morphologisch-anatomisch beschrieben. S t a r k differenzierende anatomische Merkmale zwischen Erythrophleum guineense und Erythrophleum africanum können nicht gefunden werden.

2. Die Flavonoidführung beider Drogen wird verglichen. Erythrophleum africanum zeichnet sich durch das Vorkommen eines neuen 2.3-Dihydroflavonols aus.

   Das neue aus Erythrophleum africanum in einer Ausbeute von 0.1 % isolierte 2.3-Dihydroflavonol wurde als (+)-2.3-Dihydromyricetin identifiziert.

3. Eine von D.WALDI beschriebene papierchromatographische Methode der Analyse von Alkaloiden bewährt sich bei der Auftrennung der aus den beiden Erythrophleum-Arten isolierten Alkaloidgemischen. Die näheren Bedingungen zur Papierchromatographie der Erythrophleum-Alkaloide werden angegeben. Beide Erythrophleum-Arten sind alkaloidhaltig, doch bestehen beträchtliche quantitative Unterschiede (Erythrophleum guineense 0.29 % - Erythrophleum africanum 0.008 %). In Erythrophleum guineense wurden sechs, in Erythrophleum africanum mindestens sieben Alkaloide papierchromatographisch nachgewiesen. Beide Drogen enthalten Cassain.

Experimenteller Teil

1.) Vorversuche zur Prüfung auf Flavonoide

Je 5 g Rindenpulver von Erythrophleum guineense (I) und Erythrophleum africanum (II) wurden im Soxhlet mit Methanol erschöpfend extrahiert, das Methanol i.V. abdestilliert und die Rückstände mit heißem Wasser aufgenommen. Die wässerigen Lösungen wurden dann zunächst mit Aether ausgeschüttelt, bis dieser farblos blieb, und anschließend mit Essigester.

Die Aether- und Essigesterausschüttelungen wurden i.V. vom Lösungsmittel befreit, die jeweiligen Rückstände in Methanol aufgenommen und mit etwas Magnesiumpulver und einigen Tropfen Salzsäure die Reduktionsprobe ausgeführt :

Aetherphase von I = orangerote Farbe
Aetherphase von II = tiefviolette Farbe
Essigesterphase von I = keine Reaktion
Essigesterphase von II = keine Reaktion

Da sich die Flavonoide mit Aether ausschütteln ließen, wurden je 5 g der Droge I und II mit Aether im Soxhlet extrahiert, von den Aetherextrakten der Aether i.V. abdestilliert und die Rückstände in einigen ml Methanol gelöst.

Der Reduktionstest mit Magnesium und Salzsäure ergab mit den methanolischen Lösungen folgende Färbungen :

Erythrophleum guineense (I) = orangerote Farbe
Erythrophleum africanum (II) = tiefviolette Farbe

2.) Aufbereitung der Drogen für die Papierchromatographie

Je 20 g der fein gepulverten Droge von Erythrophleum guineense (I) und Erythrophleum africanum (II) wurden im

Soxhlet mit Aether erschöpfend extrahiert, der Aether i.V. abdestilliert und die Rückstände mit heißem Wasser aufgenommen.

Die wässerigen Lösungen wurden dann solange mit Aether ausgeschüttelt, bis nach Abdunsten des Aethers und Aufnehmen des Rückstandes mit Methanol keine Reaktion mit Magnesium und Salzsäure mehr auftrat.

Die Aetherphasen wurden i.V. auf ein kleines Volumen (5 ml) eingeengt und diese Lösungen I und II für die Papierchromatographie verwendet.

Papierchromatographische Technik

Für die Papierchromatographie wurde Papier der Firma SCHLEICHER & SCHÜLL Nr. 2043 bM und WHATMAN Nr. 1 verwendet.

Chromatographiert wurde nach der aufsteigenden Methode in Entwicklungskammern aus Glas, wobei die Papiere zu Zylindern geformt waren.

Als Lösungsmittel wurden folgende Systeme versucht :

1.) n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5)
2.) Isopropanol-Ameisensäure-Wasser (2 : 5 : 5)
3.) Eisessig-Wasser (6 : 4)
4.) Eisessig-Wasser (15 : 85)
5.) Eisessig-Wasser (2 : 98)

Zur Charakterisierung der Flecken wurden folgende Reagenzien verwendet :

1.) NH_3-Dämpfe
2.) 1 %ige methanolische $ZrOCl_2$-Lösung
3.) 3 %ige methanolische KOH-Lösung
4.) 1 %ige methanolische $FeCl_3$-Lösung

Die Trennung der Pflanzenauszüge mit System 1 + 2 war nicht befriedigend, gute Trennwirkung zeigte System 3. Zur raschen Prüfung der Fraktionen bei der Säulenchromatographie eignete sich System 4.
System 5 wurde bei der Trennung der Abbauprodukte der Alkalispaltung verwendet.

Präparative Säulenchromatographie

1 kg gepulverte Rinde wurde im Soxhlet zunächst mit Petrolaether extrahiert und anschließend 16 Stunden mit Aether. Der Aetherextrakt wurde auf 1 Liter eingeengt.

a) Säulenchromatographie an Magnesol :

In eine Chromatographieröhre von 1.5 cm Ø und 25 cm Länge, die am Ablauf mit einem Schliffhahn versehen war, wurde in Aether suspendiertes Magnesol eingeschlemmt. Nach Absetzen des Magnesols betrug die Höhe der Magnesolsäule 15 cm, die dann solange mit Aether gewaschen wurde, bis nach Abdunsten kein Rückstand mehr verblieb.

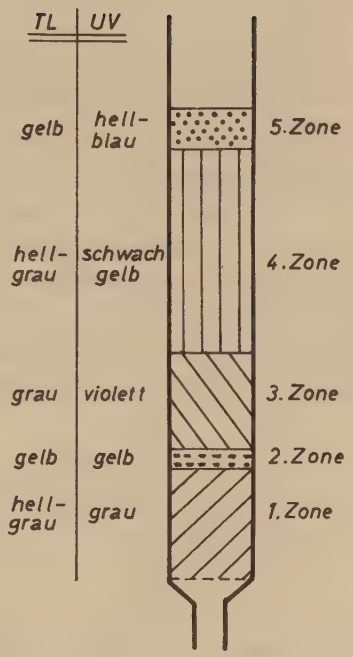


Abb.1

100 ml des Aetherextraktes wurde mit gewaschenem Magnesol eingeengt und das Lösungsmittel unter stetem Rühren auf dem Wasserbad vertrieben. Der trockene Rückstand wurde fein verrieben und auf die mit Aether bedeckte Säule geschüttet.

Bei der Chromatographie mit Aether bildeten sich 5 Zonen aus, die von unten nach oben beschrieben, folgendes Aussehen hatten (Abb.1) :

1.Zone: 3 cm; hellgelb im Tageslicht, grau im UV-Licht
2.Zone: 1 cm; gelb im Tageslicht, gelb im UV-Licht
3.Zone: 3 cm; grau im Tageslicht, violett im UV-Licht
4.Zone: 6 cm; hellgrau im Tageslicht, schwach gelb im UV-Licht
5.Zone: 2 cm; gelb im Tageslicht, hellblau im UV-Licht

Die Elution der Zonen erfolgte mit 300 ml Aether und wurde im UV-Licht beobachtet.

Nach Vertreiben des Lösungsmittels wurden aus allen Fraktionen nur harzige Rückstände erhalten. Die Fraktion der 3.Zone gab bei der Reduktionsprobe mit Zink und Salzsäure eine starke positive Reaktion (Violettfärbung). Die papierchromatographische Untersuchung im System Eisessig-Wasser (15 : 85) zeigte, daß nur diese Fraktion das Flavanonol (= Dihydromyricetin) enthielt. Versuche, diese Fraktion zur Kristallisation zu bringen, waren ohne Erfolg.

b) Säulenchromatographie an einer Kunstfaser (Perlon):

(Versuchsprodukt PP 15 Sp der Badischen Anilin- & Sodafabrik)

In eine Chromatographiesäule von 3 cm Ø und 38 cm Länge wurde in Wasser suspendierte Kunstfaser bis zu einer Säulenhöhe von 21 cm eingeschlemmt. Dann wurde die Säule mit Methanol-Wassermischungen, deren Gehalt an Methanol sukzessiv bis zum reinen Methanol gesteigert wurde, gewaschen bis das abtropfende Methanol keinen Rückstand mehr hinterließ. Hierauf wurde die Säule wieder in umgekehrter Reihenfolge bis zum Wasser gewaschen.

500 ml des Aetherextraktes wurden zur Trockene i.V. eingeengt und der braune, harzige Rückstand viermal mit je 50 ml heißem Wasser (80°) extrahiert und heiß filtriert.

Die abgekühlte trübe, wässerige Lösung wurde auf die Säule gebracht und nach Einsickern derselben mit 20 %igem Methanol (v/v) entwickelt. Hierbei bildeten sich zunächst 6 Zonen aus, deren Trennung und Farbe im UV-Licht beobachtet, von unten nach oben beschrieben, vor der Elution folgendes Aussehen hatte (Abb.2) :

1.Zone: 3 cm; grau im UV-Licht
2.Zone: 3 cm; olivgrün im UV-Licht
3.Zone: 3 cm; blau im UV-Licht
4.Zone: 3 cm; hell violettblau im UV-Licht
5.Zone: 2 cm; dunkelblau im UV-Licht
6.Zone: 5,5 cm hellgelb im UV-Licht.

Die Elution der Zonen erfolgte mit Methanol-Wasser 1 : 1 (v/v) und wurde im UV-Licht verfolgt. Im Laufe der Elution bildete sich eine 7. und zwischen der 5. und 6. Zone eine im UV-Licht hellblaue Zwischenzone 5a aus, wobei sich die Farbe der 5.Zone in dunkelviolett änderte (Abb.3).

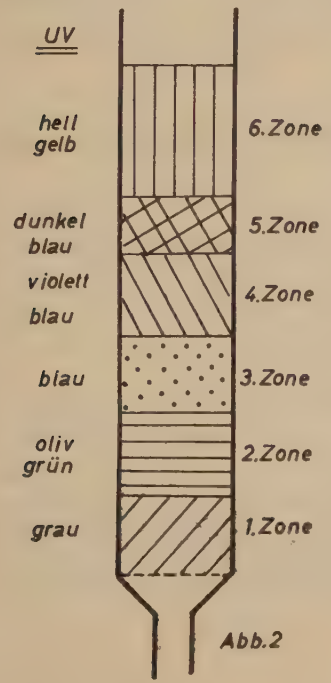


Abb.2

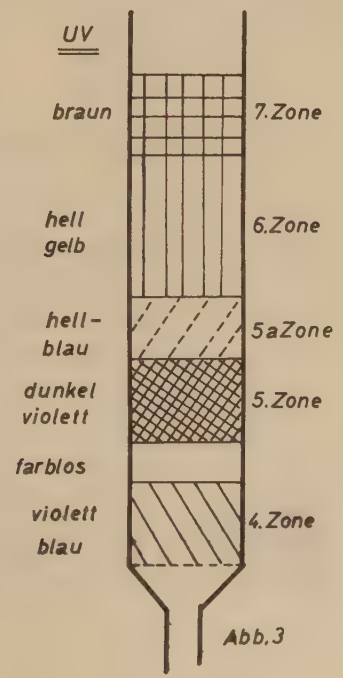


Abb.3

Für die Elution der 6 Fraktionen wurde insgesamt 600 ml mobile Phase benötigt. Die 7.Zone ließ sich nicht eluieren.

Die papierchromatographische Untersuchung der eluierten Zonen im System Eisessig-Wasser (15 : 85) ergab, daß die 5.Zone das Flavanonol (=(+)-Dihydromyricetin) enthielt.

Die einzelnen Fraktionen wurden vorsichtig in einer Vakuumeindampfapparatur eingeengt und zur Kristallisation in den Kühlschrank gestellt. Kristalline Produkte konnten aus den Fraktionen 1, 2 und 5 erhalten werden.

Tab.VII

Frakt.	Farbe i.UV	Smp.
1	-	174° Nadeln
2	gelbgrün	-
3	blau	200 - 203°
4	violett	-
5	-	223 - 225° Zers.
5a	hellblau	-
6	gelb	über 318° s.S.64

Bemerkungen:

zu 1: Geruch nach Vanillin
" 2: starker phenol. Geruch
" 3: plattenartige Stäbchen
" 5: Nadeln; Red.m.Zn + HCl positiv
" 6: Redukt. m. Mg + HCl positiv

Da die Ausbeute an kristallinen Substanzen aus den Fraktionen 1 und 2 sehr gering war, konnte eine weitere Untersuchung nicht erfolgen. Lediglich aus der Fraktion 5 konnte eine größere Menge gewonnen werden. Die Aus-

beute betrug nach Umkristallisation aus heißem Wasser 0.5 g Flavanonol ((+)-Dihydromyricetin).

Zur Gewinnung größerer Mengen von (+)-Dihydromyricetin wurden 3.5 kg Rindenpulver von Erythrophleum africanum in Anteilen von je 300 g in oben beschriebener Weise extrahiert. Der Rückstand der Extraktion von je 1 kg Droge wurde achtmal mit je 50 ml heißem Wasser ausgezogen und in analoger Weise an einer Kunstfasersäule chromatographiert. In eine Chromatographieröhre, Ø 6 cm und 75 cm Länge mit eingelegter Siebplatte, war bis zu einer Höhe von 42 cm in Wasser suspendierte Kunstfaser eingeschlemmt worden.

Die Ausbildung der Zonen und die Elution der Fraktionen erfolgte nach dem oben beschriebenen Verfahren.

Aus den eingesetzten 3.5 kg Droge ließ sich (+)-Dihydromyricetin in einer Ausbeute von 3.5 g (0.1 % bezogen auf die trockene Droge) isolieren. Die Substanz schmolz nach dreimaliger Umkristallisation aus heißem Wasser bei 225 - 227°C unter Zersetzung.

Eigenschaften von (+)-2.3-Dihydromyricetin

Farblose feine Nadeln Smp. 225 - 227°C (Zers.)

1.) Löslichkeit: Dihydromyricetin war leicht in Methanol, Aethanol, Aceton und heißem Wasser löslich, schwerer in Aether. Die Löslichkeit in kaltem Wasser ist gering. Praktisch unlöslich in Petrolaether und Benzol.

2.) Farbreaktionen: Die Reaktionen wurden mit einer 0.1% alkoholischen Lösung von (+)-Dihydromyricetin durchgeführt.

a) Reduktionsprobe: 3 ml der alkoholischen Lösung wurden mit Magnesiumpulver und wenigen Tropfen konz.Salzsäure versetzt. Es entstanden sofort violett gefärbte Re-

duktionsprodukte. Auch bei der Reduktion mit Zinkgranulat trat sofort eine kräftige violette Färbung auf.

b) Eisenchloridreaktion: 2 ml der Lösung färbten sich nach Zugabe von 1 Tropfen einer 1 %igen methanolischen Ferrichlorid-Lösung tiefviolett.

c) Alkalireaktion: Zu 2 ml der alkoholischen Lösung wurden 2 Tropfen 0.1 n-Natronlauge gegeben: es entstand eine orangerote Farbe, die sofort über grün, blau nach braun umschlug.

d) konz. Schwefelsäure: (+)-Dihydromyricetin löst sich in konz.Schwefelsäure mit intensiv gelber Farbe.

3.) Elementaranalyse+): Zur Analyse wurde die Substanz 24 Std. im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 getrocknet.

$C_{15}H_{12}O_8$ (320.26)

Ber. C 56.25 % H 3.78 % O 39.97 %
Gef. C 56.00 % H 4.00 % O 40.00 %

55.7 mg Substanz verlor beim Trocknen 1.7 mg H_2O = 3.05%. Dieser Wert entspricht einem Kristallwasserverlust von 1/2 Mol (2.73 %).

4.) Spezifische Drehung: Die spezifische Drehung wurde mit der im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 getrockneten Substanz bestimmt.

Spez. Drehung ($C_{15}H_{12}O_8$) : $[\alpha]_D^{20}$ = + 41.7°

(100.0.mg in 10 ml Aceton-Wasser 1 : 1; l = 1 dm)

Bei Hydrolyseversuchen mit 0.1 n-NCl und 2n-H_2SO_4 konnte kein Zucker nachgewiesen werden.

5.) (+)-Dihydromyricetin - Hexaacetat:

47.5 mg gut getrocknete Substanz wurde in 2 Tropfen Pyridin und 1 ml Essigsäureanhydrid unter häufigem Umschütteln gelöst und im Kühlschrank 48 Stunden stehen gelassen. Der durch 5 ml Wasser abgeschiedene kristal-

+) Analyt.Labor der Firma Schering,Berlin

line Niederschlag wurde auf einer Glasfilternutsche gesammelt, mit Wasser gewaschen und die Kristalle mehrmals aus Alkohol umkristallisiert.

Feine farblose Nadeln vom Smp. 117 - 118°C

Bestimmung der Acetylgruppen +) : $C_{27}H_{24}O_{14}$ (572.48)

Ber. 45.11 % CH_3CO

Gef. 44.50 % CH_3CO

a) Spezifische Drehung: Die spezifische Drehung wurde mit der im Vakuum bei 80° über P_2O_5 getrockneten Substanz bestimmt.

Spez. Drehung ($C_{27}H_{24}O_{14}$) : $[\alpha]_D^{20}$ = + 46.0°

(44.8 mg in 4 ml Aceton; l = 1 dm)

b) Reaktionen: Mit 1 %iger methanol.Ferrichloridlsg. tritt keine Färbung auf. Bei der Reduktionsprobe mit Magnesium und konz. Salzsäure entsteht erst nach längerer Zeit eine violettrote Farbe.

Beim Erhitzen des Acetylproduktes in konz.Salzsäure entsteht eine rosa gefärbte Lösung.

6.) Alkalispaltung: 20 mg (+)-Dihydromyricetin wurden mit 0.2 g gepulvertem Kaliumhydroxyd fein verrieben und in einem Reagenzglas 5 Minuten bei 170 - 180° geschmolzen. Die braunrote Schmelze wurde nach dem Abkühlen in wenig Wasser gelöst, mit 2 n-Schwefelsäure kongosauer gemacht und 5mal mit je 5ml Aether ausgeschüttelt. Der Aether wurde 3mal mit je 1 ml Wasser gewaschen und dann im Vakuum abdestilliert.

Der Rückstand wurde in wenig Alkohol aufgenommen und ein Teil davon im Wechsel mit authentischer Gallussäure und Phloroglucin auf das Papier aufgetragen und im System

+) Analyt.Labor der Firma Schering,Berlin

Eisessig-Wasser (2 : 98) chromatographiert. Um die Flekken sichtbar zu machen, wurde das Chromatogramm mit einer 0.1 %igen Lösung von Echtschwarzsalz K +) in 2n-Natriumacetat besprüht.

Die Farbe und Lage der Flecken stimmten gut mit den Vergleichssubstanzen Phloroglucin und Gallussäure überein.

Tab.VIII

Verbindung	RF EE-H_2O (2 : 98)	Echtschwarzsalz K
Spaltprodukte	1) 0.55; 2) 0.40	1) blau; 2) violett
Phloroglucin	0.56	blau
Gallussäure	0.40	violett

7.) Dehydrierung von (+)-Dihydromyricetin:

a) Luftoxydation (Vorversuch): 1 - 2 mg (+)-Dihydromyricetin wurden in einem Reagenzglas in 1 ml heißem Wasser gelöst und 2 Std. im siedenden Wasserbad belassen, wobei mit einer Kapillare ein ständiger Luftstrom durch die Lösung geleitet wurde. Das verdunstete Wasser wurde ständig ersetzt. Die abgekühlte Lösung wurde mit Essigester mehrmals ausgeschüttelt, der Essigester abdestilliert und der Rückstand in 1 ml Methanol aufgenommen.

Ein Teil der methanolischen Lösung wurde im System Eisessig-Wasser (6 : 4) chromatographiert.

Hierbei wurde ein gelber Fleck RF = 0.23 erhalten, der nach Besprühen mit $ZrOCl_2$-Lösung unter der UV-Lampe gelbgrün fluoreszierte.

Der andere Teil der methanolischen Lösung wurde in einer kleinen Porzellanschale mit etwas Bor- und Oxal-

+) Diazotiertes 4-Amino-3,6-dimethoxy-4'-nitro-azobenzol Serumvertrieb Marburg GmbH.

säure zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit einigen ml Aether aufgenommen. Die aetherische Lösung fluoreszierte intensiv gelbgrün.

b) 0.6 g (+)-Dihydromyricetin und 3 g Natriumhydrogensulfit wurden in 30 ml Wasser gelöst und 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Hierbei färbte sich die Lösung gelb und trübte sich nach ca. 20 Minuten unter Abscheidung von gelben Kristallen. Nach Abkühlen der Lösung wurde das Myricetin auf einer Glasfilternutsche gesammelt, mit Wasser gewaschen und aus Alkohol umkristallisiert.

Ausbeute: 0.4 g

Feine gelbe Nadeln Smp. über 320° unter Zersetzung.

Farbreaktionen:

Für die Reaktionen wurde eine 0.1 %ige alkoholische Lösung verwendet und wie unter Dihydromyricetin beschrieben durchgeführt.

a) Reduktionsprobe: Mit Magnesium und konz.Salzsäure violettrote Färbung. Die Reduktion mit Zinkgranulat war negativ.

b) Eisenchloridreaktion: olivgrüne Farbe, die nach weiterem Zusatz von Ferrichloridlösung in braunrot überging.

c) Alkalireaktion: tiefblaue Färbung, die beim Stehen an der Luft dunkelorange wird.

d) konz.Schwefelsäure: gelbe Lösung mit blaugrüner Fluoreszenz.

e) TAUBÖCK-Test: 1 ml der alkoholischen Lösung wurde mit etwas Bor- und Oxalsäure in einer kleinen Abdampfschale auf dem Wasserbad scharf zur Trockene eingedampft. Der rotgefärbte Rückstand wurde mit einigen ml Aether dige-

riert. Nach Verdünnung dieser Lösung mit Aether in einem Reagenzglas trat eine intensive gelbgrüne Fluoreszenz auf.

Zur papierchromatographischen Überprüfung der Reinheit der hergestellten Verbindung und ihrer Identität mit Myricetin, wurde diese im Wechsel mit authentischem Myricetin auf das Papier aufgetragen und in den Systemen a) n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5) und
b) Eisessig-Wasser (6 : 4) chromatographiert.

Die Farbe und RF-Werte beider Substanzen stimmten gut überein (Tab.IX) :

Tab.IX

Verbdg.	RF		Farbe		$ZrOCl_2$		bas.Pb-acetat	
	a	b	TL	UV	TL	UV	TL	UV
Flavonol aus Dihydro-myricetin	0.41	0.23	s.G.	G	G	GG	RO	O
authent. Myricetin	0.41	0.23	s.G.	G	G	GG	RO	O
Rückstand 6.Frakt.	0.41	0.23	s.G.	G	G	GG	RO	O

G = gelb GG = gelbgrün RO = rotorange O = orange
s. = schwach

Der aus der 6.Fraktion (s.Säulenchromatographie an einer Kunstfaser Tab.*VII*) hinterbliebene gelbbraune amorphe Rückstand ergab bei der Chromatographie in beiden Lösungsmitteln mit Myricetin identische RF-Werte und Farbreaktionen.

Nach mehrmaliger Umkristallisation gelang es, einige Kristalle zu isolieren, die sich oberhalb von 318°C anfingen zu zersetzen.

9.) Hexaacetyl-Myricetin :

47.8 mg Myricetin wurden mit 2 ml Essigsäureanhydrid und 0.2 g wasserfreiem Natriumacetat eine Stunde am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit 2 ml Wasser versetzt und in den Kühlschrank gestellt. Die abgeschiedenen Kristalle wurden auf einer Glasfilternutsche gesammelt, mit Wasser gewaschen und aus Alkohol dreimal umkristallisiert. Seidenfeine, farblose Nadeln Smp. 215 - 217°C.

10.) Alkalispaltung:

1-2 mg Myricetin wurden in einem Reagenzglas (Ø 1.2 cm und 5 cm Länge und Schliffverbindung) mit aufgesetztem Steigrohr mit 1 ml 50 %iger Kaliumhydroxyd Lsg. im Sandbad 10 Minuten zum Sieden erhitzt. Die abgekühlte Lösung wurde mit 2n-Schwefelsäure angesäuert und fünfmal mit je 3 ml Aether ausgeschüttelt. Der Aether wurde mit 1 ml Wasser gewaschen und im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde mit wenig Alkohol aufgenommen und im System Eisessig-Wasser (2 : 98) chromatographiert.

Vergleichssubstanzen: Phloroglucin und Gallussäure.

Die Entwicklung der Flecken erfolgte wieder mit Echtschwarzsalz K, wie unter Alkalispaltung von Dihydromyricetin beschrieben.

Tab. X

Verbindung	RF EE-H_2O (2:98)	Farbe mit Echtschwarzsalz K
Spaltprodukte	1) 0.52; 2) 0.34	1) blau; 2) violett
Phloroglucin	0.54	blau
Gallussäure	0.36	violett

Die Alkalispaltung mit authentischem Myricetin unter denselben Bedingungen führte zu dem gleichen Ergebnis.

Versuche, Myricetin mit trockenem Kaliumhydroxyd bei verschiedenen Temperaturen (175, 190 u. 250°C) zu spalten, waren negativ. Die Abbauprodukte traten entweder garnicht auf oder sie waren nicht eindeutig zu identifizieren. War dagegen das Kaliumhydroxyd sehr feucht geworden, konnten die erwarteten Spaltprodukte nachgewiesen werden.

11.) PACHECO-Reaktionen:

10 mg Dihydromyricetin, 10 ml Essigsäureanhydrid und 100 mg trockenes Natriumacetat wurden am Steigrohr 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Das überschüssige Anhydrid und die gebildete Essigsäure wurden im Vakuum vollständig abdestilliert.

Der Kolbenrückstand wurde dann mit ca. 2 ml 50 %iger Essigsäure, die 20 % Salzsäure enthielt, gelöst und der Kolbeninhalt 1 Stunde zum Sieden erhitzt. Die Flüssigkeit wurde im Vakuum abdestilliert und der Rückstand in 100 ml 1n-Salzsäure gelöst.

Die salzsaure Lösung wurde zunächst dreimal mit je 50 ml Aether ausgeschüttelt und dann zweimal mit je 5 ml Isoamylalkohol (=Flavyliumchlorid Lsg. I).

12.) Reduzierende Acetylierung von Myricetin:

10 mg Myricetin, 10 mg Zinkstaub, 50 mg trockenes Natriumacetat und 5 ml Essigsäureanhydrid wurden 1 Stunde zum Sieden erhitzt. Dann wurde noch einmal 10 mg Zinkstaub hinzugefügt und wieder 1 Stunde im Sieden gehalten. Nach Abkühlen wurde der Kolbeninhalt auf einer Porzellansinternutsche abgesaugt und der Kolben und Filterrückstand mit sehr wenig Eisessig, bis das Filtrat farblos ablief, gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden in 30 ml Wasser eingegossen und der rote Niederschlag auf einer Porzellansinternutsche abgesaugt, in wenig Eis-

essig gelöst und wieder in 30 ml Wasser eingegossen, abgesaugt und im Vakuum bei 50°C getrocknet.

Überführung in Anthocyanidin: Das reduzierte Acetat (7.0 mg) wurde in 1.5 ml eines Gemisches von 1 ml 3n-Salzsäure und 5 ml Isopropanol in einer Ampulle 40 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Dann wurde das Lösungsmittel im Stickstoff-Strom entfernt und der Rückstand in 5 ml Isoamylalkohol aufgenommen (=Flavyliumchloridlösung II).

In einem Parallelversuch wurde authentisches Myricetin reduziert (=Flavyliumchloridlösung III).

Die Flavyliumchloridlösungen I, II, III wurden im System Eisessig-Wasser-Salzsäure (25 %) (30 : 10 : 3) chromatographiert.

Als Bezugssubstanz wurde Cyanidinchlorid verwendet.

Alle drei Flavyliumchloride hatten die gleichen RF-Werte.

Tab.XI

Verbindung	RF (Forestal)	Farbe unbehandelt	Farbe 2n-Na_2CO_3
Flavyliumchlorid I	0.3	rotviolett	graublau
Flavyliumchlorid II	0.3	rotviolett	graublau
Flavyliumchlorid III	0.3	rotviolett	graublau
Cyanidinchlorid	0.47	rotviolett	blaugrün

UV-Absorptionsmessungen

Die Extinktionswerte der Substanzen wurden in Methanol p.a. (Merck) (ausgenommen die Messungen der Flavyliumsalze) in Quarzküvetten mit der Schichtdicke 1 cm mit einem Spektralphotometer+) gemessen.

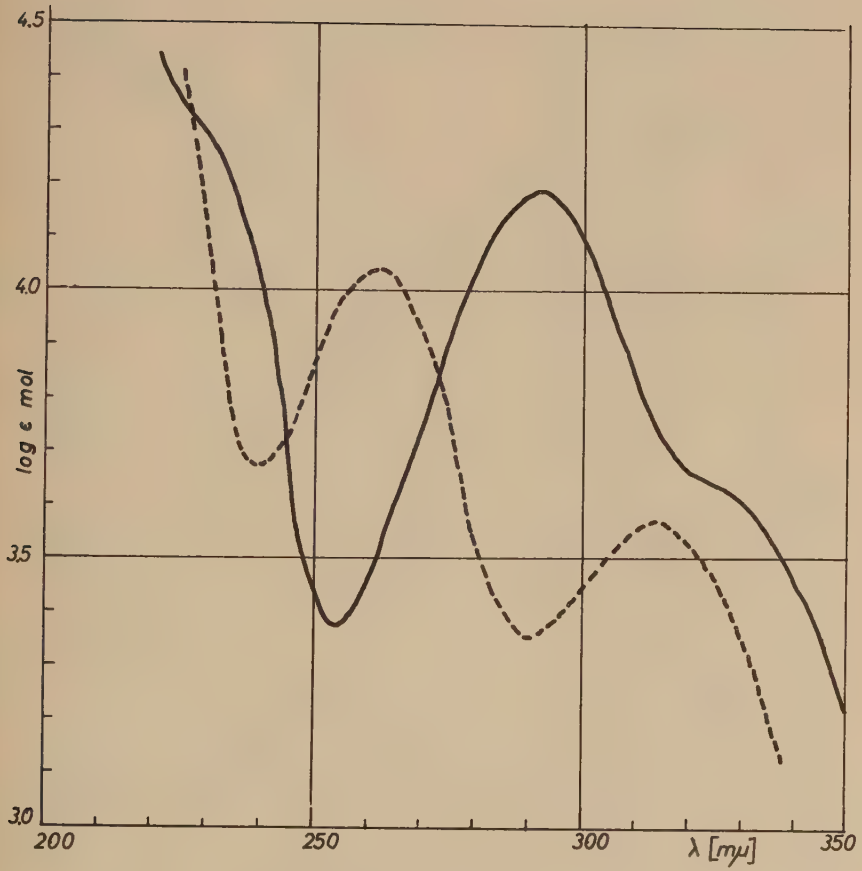
Vor jeder Messung wurde die Absorptionsdifferenz der Eigenextinktion des Lösungsmittels ausgeglichen.

Bei der graphischen Auswertung der Messergebnisse wurde, wie folgt, vorgegangen: aufgetragen wurde
$\log \epsilon$ molar $\left[cm^2.Mol^{-1}\right]$ gegen die Wellenlänge $\left[m\mu\right]$
oder, sofern die Konzentration nicht bekannt war,
$\log E_{gem.}$ gegen die Wellenlänge $\left[m\mu\right]$ = $\log E_{rel.}$

Die einzelnen Konzentrationen der Lösungen betrugen:

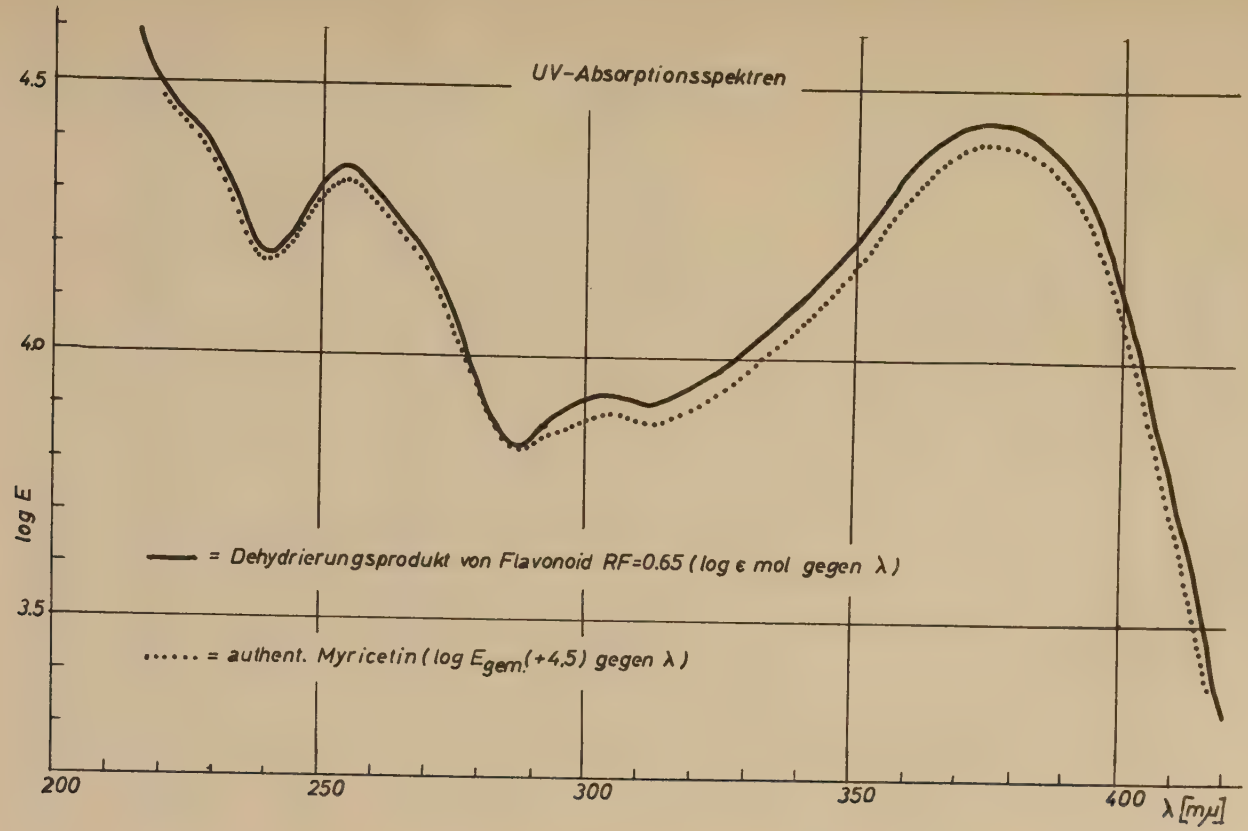
(+)-2.3-Dihydromyricetin = $0.399 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter
(+)-2.3-Dihydromyricetin-Hexaacetat = $0.498 \cdot 10^{-4}$ -"-
Dehydrierungsprodukt (Myricetin) = $0.345 \cdot 10^{-4}$ -"-

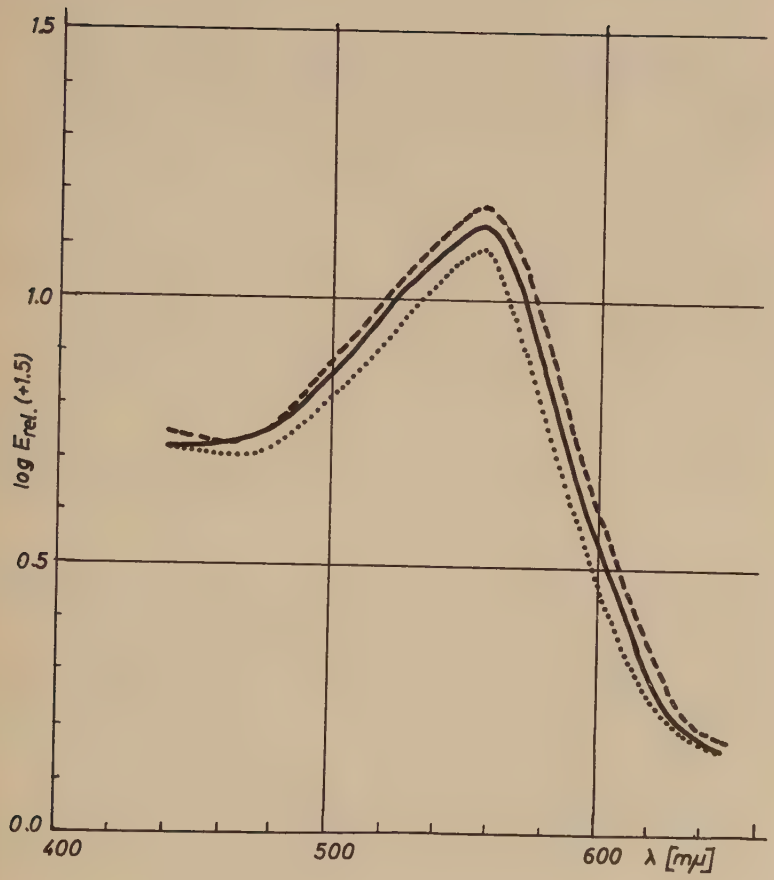
+) Spektralphotometer der Fa.CARL ZEISS PM QII



UV-Absorptionsspektren

——— =(+)-2.3-Dihydromyricetin - - - =(+)-2.3-Dihydromyricetin-Hexaacetat


UV-Absorptionsspektren
4.5
4.0
3.5
log E
= Dehydrierungsprodukt von Flavonoid RF=0.65 (log ε mol gegen λ)
..... = authent. Myricetin (log E gem. (+4,5) gegen λ)
200
250
300
350
400
λ [mμ]



Absorptionsspektren der Flavyliumchloride
(in Isoamylalkohol)
von

····· =(+)-2.3-Dihydromyricetin – – – – =Dehydrierungsprodukt

——— = authent. Myricetin

1.) Isolierung von Cassain aus Erythrophleum guineense

2 kg fein gepulverte Rinde (in Teilmengen von 300 g) wurden mit 1 l NH_3 (10 %) angefeuchtet und im Soxhlet erschöpfend mit Aether extrahiert. Am Boden des Kolbens setzte sich im Laufe der Extraktion ein schwarzbrauner, sirupartiger Rückstand (R) ab.

Der überstehende Aether wurde auf 600 ml eingeengt und mit 5 % Kalilauge gewaschen, bis sich diese nicht mehr färbte.

Die Aetherlösung wurde dann mit 0.5n-HCl, die etwas $NaHSO_3$ enthielt, mehrmals ausgeschüttelt, die salzsaure Lösung mit Aether gewaschen und nach Alkalisieren die Alkaloide wieder mit Aether extrahiert.

Die aetherische Basenlösung wurde noch einmal mit 5 % KOH gewaschen und mit wasserfreien Na_2SO_4 getrocknet. (= Alkaloidlösung A)

Aufarbeitung des Rückstandes (R): Der oben erwähnte Rückstand wurde in wenig Methanol aufgelöst, mit 0.5 n-NCl angesäuert und der Methanol i.V. abdestilliert. Die vom Methanol befreite salzsaure Lösung wurde mit Aether solange gewaschen, bis dieser farblos blieb. Dann wurde mit KOH (5 %) alkalisch gemacht und mit Aether mehrmals extrahiert. Die vereinigten Aetherausschüttelungen wurden wieder gründlich mit KOH gewaschen und mit wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet.
(= Alkaloidlösung B)

Die Alkaloidlösungen A und B wurden vereinigt und auf ca. 200 ml eingeengt. Diese durch ein Eisbad gekühlte Lösung wurde unter ständigem Rühren tropfenweise mit einer 10 % Lösung von konz. Schwefelsäure in Aether bis zur kongosauren Reaktion versetzt. Die Salze fielen zunächst flockig aus, dann aber nach Zusatz

der benötigten Menge Schwefelsäure, setzten sie sich klebrig an den Wandungen des Gefässes ab.

Der überstehende Aether wurde abgegossen, die ausgefallenen Salze, nach Waschen mit frischem Aether, in 200 ml 90 % Methanol gelöst und nach Abkühlen auf Zimmertemperatur mit 200 ml Aether versetzt. Zur Kristallisation wurde die Lösung über Nacht in den Kühlschrank gestellt.

Die auskristallisierten Bisulfate wurden auf einer Glasfilternutsche gesammelt, mit Methanol-Aether (1 : 1), dann mit Aether gewaschen und getrocknet. (Mutterlauge I)

Dieses Rohprodukt wurde mehrmals in möglichst wenig siedendem Methanol gelöst und bei Zimmertemperatur der Kristallisation überlassen.

Weiße Plättchen Smp. 292 - 294° (Zers.)
= reines Cassainbisulfat. Ausbeute: 2.1 g.

Cassain - das reine Cassainbisulfat wurde in Wasser gelöst, mit KOH (5 %) im Überschuss versetzt und mehrmals mit Aether ausgeschüttelt. Die Aetherauszüge wurden wieder mit KOH gewaschen, kurz mit wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet und auf 200 ml eingeengt. Die aetherische Lösung wurde bei -10°C zur Kristallisation stehen gelassen.

Die auskristallisierte Base wurde auf einer Glasfilternutsche gesammelt und mit wenig eisgekühltem Aether gewaschen. Aus der Mutterlauge wurden durch Einengen weitere Fraktionen an Cassain erhalten.

Das Cassain wurde dann in Aether bis zum konstanten Schmelzpunkt umkristallisiert.

Weiße glänzende Kristallplättchen. Smp. 142.5°

Spezifische Drehung:

Die spez.Drehung wurde mit der im Vakuum bei 40° über P_2O_5 getrockneten Substanz bestimmt.

Spez.Drehung ($C_{24}H_{39}O_4N$) : $[\alpha]_D^{20} = -110°$

(109 mg in 25 ml Aethanol (90 %); l = 1 dm)

2.) Isolierung der anderen Alkaloide

Zur Gewinnung der anderen Alkaloide wurden die aetherisch-alkoholische Mutterlauge I des Cassainbisulfates und die Mutterlauge der Umkristallisationen vereinigt, mit NH_3 im geringen Überschuß versetzt und kurz aufgekocht. Nach Absetzen des gebildeten $(NH_4)_2SO_4$ wurde dieses durch Filtration beseitigt und die Lösung mit 0.5 n-HCL angesäuert. Dann wurde Aether und Methanol i.V. möglichst vollständig abdestilliert.

Die salzsaure Lösung wurde mit 5 % KOH stark alkalisch gemacht und die Alkaloide mit Aether mehrmals ausgeschüttelt. Die vereinigten Aetherlösungen wurden wiederholt mit KOH (5 %), dann mit etwas Wasser gewaschen und mit wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet. Der Aether wurde i.V. abdestilliert und der Rückstand getrocknet.

Cremefarbenes,amorphes Alkaloidgemisch. Ausbeute 4.5 g

3.) Alkaloidisolierung aus Erythrophleum africanum

500 g fein gepulverte Rinde wurde mit 250 ml NH_3 (10 %) durchfeuchtet und mit Aether im Soxhlet erschöpfend extrahiert.

Der aetherische Extrakt wurde auf 150 ml eingeengt, mit KOH (5 %) solange gewaschen bis die alkalische Phase farblos blieb, und dann die Alkaloide mit 0.5n-HCl, die etwas $NaHSO_3$ enthielt, ausgeschüttelt.

Die salzsaure Lösung wurde mehrmals mit Aether gewaschen, dann mit KOH (5 %) alkalisiert und die Basen wieder erschöpfend mit Aether extrahiert. Die vereinigten Ausschüttelungen wurden noch einmal mit KOH (5 %), dann mit wenig Wasser gewaschen und mit wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet.

Nach Abdestillieren des Aethers i.V. hinterblieb ein schwach gelbgefärbter, amorpher Rückstand.

Ausbeute 0.04 g.

4.) Papierchromatographie der Alkaloide

Für die Papierchromatographie wurde Papier der Firma SCHLEICHER & SCHÜLL Nr.2043 bM verwendet. Chromatographiert wurde nach der aufsteigenden Methode in Entwicklungskammern aus Glas, wobei die Papiere zu Zylindern geformt waren.

Für die Vorversuche zur Auswahl des geeignetsten Lösungsmittels wurden Papierstreifen (20 mm x 240 mm) benutzt und in Reagenzgläsern (Ø 2.2 cm x 22 cm) chromatogrphiert, wobei die Streifen durch einen gespaltenen Korken befestigt wurden.

Die Papiere wurden mit Formamid in Aceton (2 : 8) imprägniert, zwischen Filterpapier abgepresst.

Es wurden 1 % alkoholische Alkaloidlösungen verwendet und in einer Konzentration zwischen 50 - 100 γ jeweils auf die einzelnen Startpunkte aufgetragen. Als Vergleichs- und Standardsubstanz wurde jedesmal Cassain mit aufgetragen.

Folgende Systeme wurden geprüft :

1.) Formamid/Chloroform-Diaethylamin (9:1) stark polar
2.) Formamid/Cyclohexan-Diaethylamin (9:1)
3.) Formamid/Benzin-Diaethylamin (9:1)
4.) Formamid/Petroleum-Diaethylamin (9:1) sehr schwach polar

System 1 war unbrauchbar, die Alkaloide liefen an der Front mit, von den anderen zeigte System 4 die beste Trennwirkung.

Die entwickelten Chromatogramme (Laufstrecke maximal 25 cm) wurden 7 Min. bei 110 - 120° getrocknet und nach Markierung der Alkaloidflecken unter der Purinlampe (Emissionsmax. bei 260 m) mit einer frisch bereiteten Jodplateatlösung besprüht.

Jodplateatreagenz:

Kaliumjodidlösung 1.1 % wäßrig
Platinchloridwasserstoffsäurelösung 0.135 % wäßrig.
Zum Besprühen werden jeweils gleiche Teile der beiden Lösungen gemischt.

Verzeichnis der Abbildungen
(gezeichnet von H.WOERN)

Abb. 1: Erythrophleum guineense G.DON (nach M.Boutique del) [1]

2: Erythrophleum africanum (Welw.) HARMS (=Erythrophloeum pubistamineum Hennings) (nach HENNINGS)[2]

3: Rindenstück von Erythrophleum guineense G.DON

4: Rindenstück von Erythrophleum africanum (Welw.) HARMS

5: Lupenbild des Querschnittes der Rinde von Erythrophleum africanum

a = Kork, b = Sklerenchymring, c = Steinzellnester
d = Markstrahlen

6: Innerster Teil der sekundären Rinde von Erythrophleum africanum (quer)

a = Exkretzellen, b = Siebteile, c = Markstrahlen

7: Sekundäre Rinde von Erythrophleum africanum (quer)

a = Exkretzellen, b = zusammengedrücktes Siebgewebe,
c = Markstrahlen, d = Bastfaser, e = Steinzellnester

8: Äußerer Teil der sekundären Rinde von Erythrophleum africanum (quer)
mit sich verbreiterndem Markstrahl = a,
Rindenstrahl = b,
Steinzellnest = c

9: Einzelne Zellgruppen der Rinde von Erythrophleum africanum:

a = Steinzellgruppe der Außenrinde
b = Ausschnitt aus dem Sklerenchymring
c = Kristalle
d = Langgestreckte Steinzelle aus Innenrinde
e = Bastfasergruppe (quer)
f = Exkretschlauch längs (radial)
g = Exkretzellen nach Mazeration mit 50 %iger KOH
h = Siebröhre mit netzleiterartiger Tüpfelung und Siebplatten
i = Bastfaser (längs)
k = Stärke

---

[1] Flore du Congo Belge et du Ruanda-Urundi III, 242 (1952)
[2] HENNINGS,P., Gartenflora 38, 39 (1889)

Abb.1: Erythrophleum guineense G.Don (n.M.Boutique del)

Abb.2: Erythrophleum africanum (Welw.)Harms (=Erythrophloeum pubistamineum Hennings) (nach Hennings)

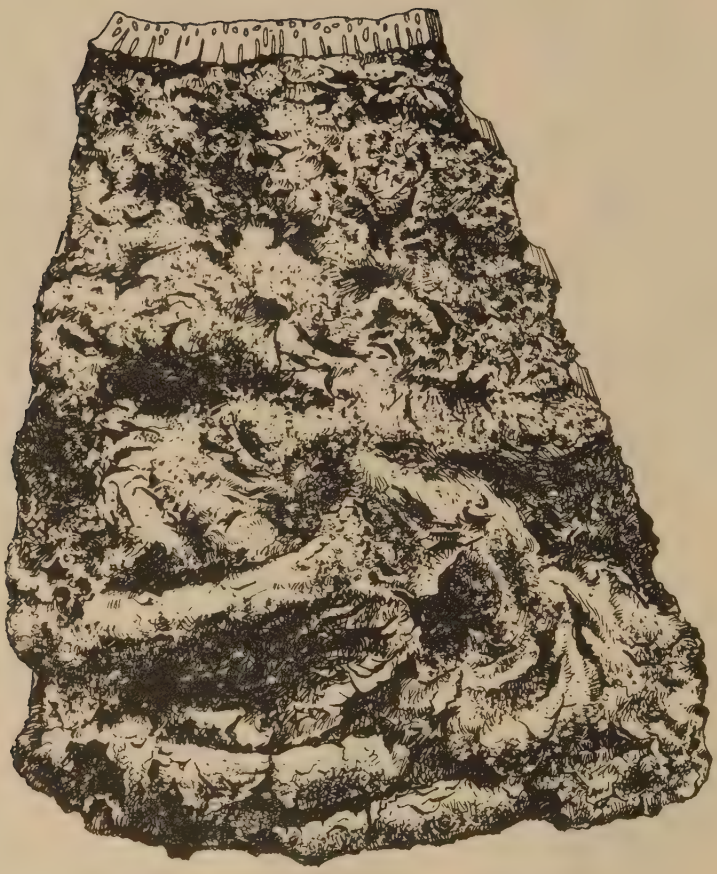


Abb.3: Rindenstück von E.guineense G.Don

Abb.4: Rindenstück von E.africanum (Welw.) Harms

Abb.5: Lupenbild des Querschnittes der Rinde von E.africanum

a = Kork, b = Sklerenchymring, c = Steinzellnester
d = Markstrahlen

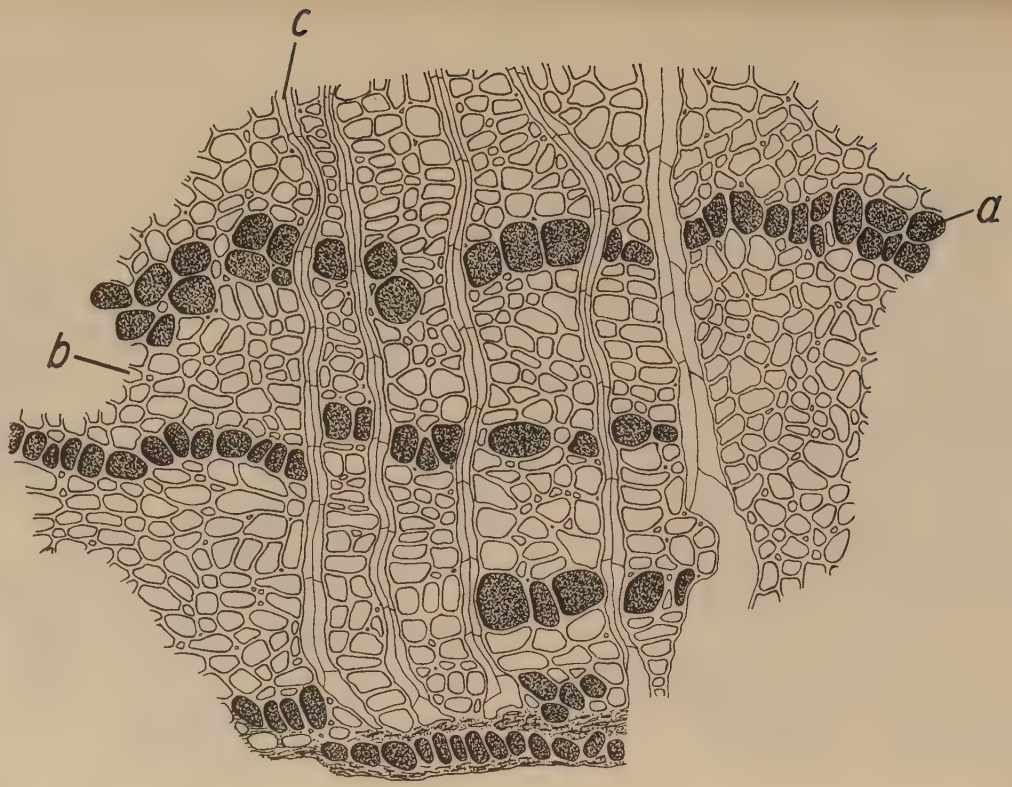


Abb.6: Innerster Teil der sekundären Rinde von E.africanum (quer)
a = Exkretzellen, b = Siebteile, c = Markstrahlen

Abb.7: Sekundäre Rinde von E.africanum (quer)
a = Exkretzellen, b = zusammengedrücktes Siebgewebe,
c = Markstrahlen, d = Bastfaser, e = Steinzellnester

Abb.8: Äußerer Teil der sekundären Rinde von E.africanum (quer) mit sich verbreiterndem Markstrahl = a, b = Rindenstrahl, c = Steinzellnest

Abbildung 9: Einzelne Zellgruppen der Rinde v. E.africanum

a = Steinzellgruppe der Außenrinde, b = Ausschnitt aus dem Sklerenchymring c = Kristalle, d = Langgestreckte Steinzelle aus Innenrinde, 3 = Bastfasergruppe (quer), f = Exkretschlauch längs (radial) , g = Exkretzellen nach Mazeration mit 50%iger KOH, h = Siebröhre mit netzleiterartiger Tüpfelung und Siebplatten, i = Bastfaser (längs), k = Stärke

LEBENSLAUF

Am 4. Dezember 1931 wurde ich, Edmund, Wilhelm, Jürgen Klaffenbach, Sohn des Altphilologen Professor Dr. Günther Klaffenbach und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Streuber, in Berlin geboren.

Ostern 1938 wurde ich in die Volksschule in Berlin-Lichterfelde eingeschult. Nach dem 4. Grundschuljahr besuchte ich das Schiller-Gymnasium in Berlin-Lichterfelde, das 1945 mit dem Steglitzer Gymnasium vereinigt wurde. Hier konnte ich im Juni 1950 meine Reifeprüfung ablegen.

Oktober 1950 begann ich die praktische Ausbildung als Apothekerpraktikant in der Sertürner-Apotheke in Berlin, die ich 1952 mit dem Vorexamen abschloß.

Zum Sommersemester 1953 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Pharmazie an der Technischen Universität Berlin, das ich nach 2 Semestern an der Freien Universität Berlin fortsetzte. Nach 6-semestrigem Studium bestand ich im Frühjahr 1956 das Staatsexamen.

Anschließend war ich als "wissenschaftliche Hilfskraft" am Pharmakognostischen Institut der Freien Universität tätig, nur unterbrochen durch eine halbjährige Kandidatenzeit in der Apotheke z.gold.Einhorn. Die Approbation als Apotheker erhielt ich im Juni 1958.

Ich bin verheiratet und habe ein Kind.

Fotodruck Arno Brynda, Berlin W 35